Aus der Abteilung Innere Medizin I
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. W. Dölle
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

INDUZIERBARKEIT DER GAMMA – GLUTAMYL – TRANSPEPTIDASE DURCH RIFAMPICIN IN DER LEBER DES MENSCHEN UND DER RATTE

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
Tübingen

vorgelegt von

RENATE LORENZ
aus Iffezheim

1981

Aus der Abteilung Innere Medizin I
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. W. Dölle
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

INDUZIERBARKEIT DER GAMMA – GLUTAMYL – TRANSPEPTIDASE DURCH RIFAMPICIN IN DER LEBER DES MENSCHEN UND DER RATTE

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
Tübingen

vorgelegt von
RENATE LORENZ
aus Iffezheim

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. G. Rassner
1. Berichterstatter:	Professor Dr. W. Dölle
2. Berichterstatter:	Professor Dr. H. Remmer

Meiner Mutter gewidmet

Ich danke Herrn Professor Dr. W. Dölle für die Überlassung des Themas und den Arbeitsplatz, der es mir ermöglichte, die vorliegende Arbeit zu erstellen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. R. Fleischmann, der mir jederzeit als Ratgeber und Stütze zur Seite stand.

Fräulein R. Wolfram danke ich für die Geduld, die sie aufbringen mußte, um mich technisch zu beraten und mit mir zusammen zu arbeiten.

Die statistische Auswertung der Untersuchungsergebnisse erfolgte mit Hilfe des Instituts für Biomathematik der Universität Tübingen.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	3
1.1	Aufgabenstellung	5
2.	Material und Methodik	7
2.1	Substanzen	7
2.2	Tiermaterial und Vorbehandlung der Tiere	8
2.3	Probanden	9
2.4	Präparation der Mikrosomen	9
2.5	Mikrosomale Inkubationen	11
2.5.1	Messung der GGT in Serum und Mikrosomen	11
2.5.2	Messung des Gehaltes an Cytochrom-P-450	12
2.5.3	Messung der NADPH-Cytochrom-c-Reduktase	12
2.5.4	Messung der Arylhydrocarbonhydroxylase	13
2.5.5	Messung des Proteingehaltes nach Lowry	14
2.6	Statistik	16
3.	Ergebnisse bei der Ratte	17
3.1	Vorversuche mit der GGT	17
3.1.1	Proteinabhängigkeit	17
3.1.2	K_M-Wert der GGT in Mikrosomen	18
3.1.3	Linearität der GGT im Versuch, Zeitabhängigkeit	
3.1.4	Einfluß des Aufbewahrungsmodus und der Vorbehandlung auf die Aktivität der GGT	19
3.2.	Bestimmung der Aktivität der GGT bei Kontrollratten und bei induzierten Ratten	20
3.3	Bestimmung der Aktivität der AHH und des Gehaltes an Cytochrom-P-450 bei Ratten	23
3.4	Korrelationen der mikrosomalen Enzymaktivitäten der Ratte	25
4.	Ergebnisse beim Menschen mit und ohne Behandlung mit Rifampicin	26
4.1	Vorbemerkungen	26
4.2	Bestimmung der GGT bei Probanden mit und ohne Behandlung mit Rifampicin	27

4.3 Bestimmung der Aktivität der AHH und der Cytochrom-c-Reduktase bei Probanden mit und ohne Behandlung mit Rifampicin 31
4.4 Korrelationen der mikrosomalen Enzyme und der Serum-GGT 36
5. Verlaufsbeobachtung der GGT bei Probanden, die unter Rifampicinbehandlung stehen 39
6. Diskussion 43
6.1. Induktion arzneimittelabbauender Enzyme in der Rattenleber 43
6.2. Induktion arzneimittelabbauender Enzyme in der menschlichen Leber nach Behandlung mit Rifampicin
6.3. Korrelation der Aktivitäten der Serum-GGT mit den Aktivitäten in der mikrosomalen Fraktion 47
6.4. Verlauf der GGT im Serum während der Rifampicinbehandlung 49
7. Zusammenfassung 52
8. Anhang 54
9. Literaturverzeichnis 59

1. Einleitung

Das Enzym Gamma-Glutamyl-Transpeptidase (GGT) überträgt Gamma-Glutamylreste von einer Aminosäure auf die andere, oder von einem Peptid, das einen Gamma-Glutamylrest trägt, auf ein anderes Peptid bzw. auf eine andere Aminosäure. Dabei wirkt die GGT nicht nur als Transpeptidase, sondern auch als Hydrolase (4, 19, 46).

Zusammen mit anderen Enzymen ist sie am Gamma-Glutamyl-Zyklus beteiligt, der der Aufrechterhaltung des Aminosäure-Pools dient (8, 49).

Eine weitere Funktion liegt im Aminosäuretransport durch die Zellmembran. Die hohe Konzentration der GGT im Bürstensaum der Tubuluszellen der Niere und im Bürstensaum der Mukosazellen des Dünndarms legt die Vermutung nahe, daß die GGT hier bei der Absorption von Aminosäuren beteiligt ist (4, 8, 22, 23, 46, 49).

Obwohl die GGT in verschiedenen Organen vorkommt, scheint eine pathologisch erhöhte Serumaktivität dieses Enzmys fast ausschließlich Folge eines Austrittes aus den Hepatozyten oder Gallengangsepithelien zu sein (34).

Die höchsten Werte im Serum werden bei primärem Lebercarcinom erreicht. Hohe Werte treten auch bei Lebermetastasen des Mammacarcinoms und des Prostatacarcinoms auf. Dabei ist die Aktivität im perineoplastischen Gewebe noch stärker erhöht, als in der Metastase (20, 33, 39, 57).

Ein Anstieg nach Alkoholschädigung erfolgt bevor die anderen Enzyme eine Aktivitätssteigerung zeigen (20, 25, 57, 60, 69, 73).

Bei akuter Virushepatitis steigt die GGT an und erreicht ein Plateau, das sie erst lange nach Normalisierung der Transaminasen verläßt. Sie ist somit der sensibelste Indikator für eine Ausheilung (25, 47, 60).

Eine herausragende Bedeutung hat die Serum-GGT bei der Diagnose von Cholostasen, wo sie ebenfalls als sehr empfindliches Indikatorenzym angesehen wird (20, 25, 33, 47, 60). Die Serumgallensäuren haben in jüngster Zeit bei der Cholostasediagnostik die GGT allerdings auf den zweiten Platz verdrängt.

Da die absolute Aktivität der GGT im Serum im Individualfall keinen Rückschluß auf die Art der Lebererkrankung zuläßt, auch nicht im Vergleich mit anderen Enzymen, wurde versucht an Hand von Isoenzymen eine weitere Differenzierung zu erreichen (27). Mittels der Sephadexsäule konnten zwei wichtige Isoenzyme isoliert werden. Das Isoenzym der adulten Leber enthält am terminalen Ende vermindert Neuraminsäure im Vergleich zum fetalen Isoenzym. Das fetale Isoenzym besitzt die Eigenschaften der sog. carcino-embryonalen Proteine. Das Auftreten der fetalen Form dürfte ein Ausdruck gesteigerter Regeneration sein (31, 32). Die Isoenzyme sind Dimere aus zwei nicht identischen Einheiten (68).

Obwohl beim Menschen die Niere das an GGT reichste Organ ist, ist die Lokalisation der GGT in der Leber für den Kliniker wegen ihrer Bedeutung bei erhöhten Serumwerten von größerem Interesse. In der Leber ist die GGT in den Epithelien der Gallengänge am stärksten konzentriert, ebenso enthalten die Hepatozyten, vor allem die der Läppchenperipherie, das Enzym GGT (2, 17, 44, 46, 66, 67). In der Zelle ist die GGT hauptsächlich an die Plasmamembranen gebunden. Bei den üblicherweise angewandten Fraktionierungstechniken für Zellorganellen erscheint sie deshalb am konzentriertesten in der Mikrosomenfraktion (48, 55, 66). Bei Verwendung der 5-Nucleotidase als Markerenzym für Plasmamembranen wurden 40 % der Aktivität der GGT in der

mikrosomalen Fraktion gefunden (16).

Enzyminduzierende Arzneimittel, die eine Vermehrung mikrosomaler Monooxygenasen in der Leber bewirken, wie z.B. Phenobarbital, Rifampicin, Phenytoin und andere Antikonvulsiva, führen zu einer gleichzeitigen Erhöhung der Serum-GGT Aktivitäten. Sie scheint sich somit als einfacher Screeningtest zur Erfassung einer Induktion des Arzneimittel metabolisierenden Systems anzubieten (7, 20, 57, 63).

Berichtet werden von Serum-GGT Aktivitätserhöhungen beim Menschen durch Phenobarbital, DPH, Aminopyrin und Rifampicin. Des weiteren werden Anstiege der Serumaktivitäten nach Äthylalkohol, Cortisol und Halothan mitgeteilt (3, 21, 26, 33, 36, 56, 57, 71, 73).

Bei Untersuchungen von Rattenlebermikrosomen wurde nach Gabe von Phenobarbital, Aminopyrin, Cortisol und Östrogen eine Erhöhung der GGT gefunden. Rifampicin zeigt bei Ratten keine Induktion der GGT, jedoch wurde beim Meerschweinchen eine Vermehrung des glatten endoplasmatischen Retikulums nachgewiesen (3, 27, 28, 54).

Auch nach Gabe von Äthylalkohol wurde eine Erhöhung der Aktivität der GGT in den Mikrosomen von Rattenlebern gefunden (69).

1.1 Aufgabenstellung

Folgende Fragenkomplexe sollen untersucht werden.

1. Induziert Rifampicin bei Rattenlebern die GGT.
2. Grad der Induktion arzneimittelabbauender Enzyme in der Rattenleber unter Rifampicin im Vergleich zu anderen be-

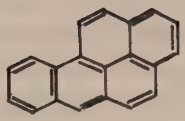
kannten Enzyminduktoren. Verwendet wurden 3,4-Benzpyren, Phenobarbital, Transstilbenoxyd und DDT. Überprüft werden die Enzyme Arylhydrokarbonhydroxylase, der Gehalt an Cytochrom-P-450 und die GGT

3. Vergleich der Induktion der GGT in den Lebermikrosomen von Menschen, die mit Rifampicin behandelt werden, im Vergleich zu Enzymen des Fremdstoff- und Arzneimittelmetabolismus. Hier werden die Enzyme Arylhydrokarbonhydroxylase, die Cytochrom-c-Reduktase und die GGT überprüft und miteinander verglichen.
4. Korrelation der Aktivitäten der Serum-GGT mit den in den menschlichen Lebermikrosomen gemessenen Aktivitäten. Damit soll untersucht werden, ob die Serumaktivitäten der GGT als Screeningenzym für eine mikrosomale Enzyminduktion verwendet werden kann. Es ist bekannt, daß es große Variabilitäten zwischen verschiedenen Individuen nach Gabe von enzyminduzierenden Substanzen gibt, und es fehlt ein einfacher Test um die Induktion zu überprüfen (7).
5. Verlauf der GGT im Serum während der Rifampicinbehandlung in Bezug zum mutmaßlichen Induktionszustand des endoplasmatischen Retikulums beim Menschen. Hierzu wird eine Statistik mit den Serumverläufen der GGT von Patienten erstellt, die Rifampicin erhielten.

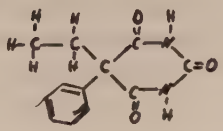
2. Material und Methoden

2.1 Substanzen

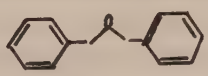
2.1.1 3,4-Benzpyren
Firma Aldrich, Europe, Belgien



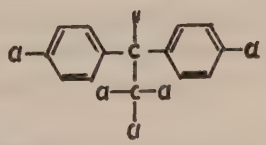
2.1.2 Phenobarbital
Präparat "Luminal, Firma Merck



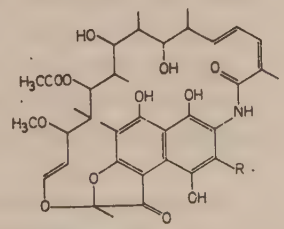
2.1.3 Transstilbenoxid
Firma EGA Chemie, Steinheim



2.1.4 DDT
1,1bis(p-Chlorophenyl)2,2,2-trichloräthan



2.1.5 Rifampicin
N-amino-N-Methylpiperazin-Rifampicin
Präparat der Firma Grünenthal



Rifamycin SV R = H
Rifampicin R = —CH=N—N N—CH_3

2.2 Tiermaterial und Vorbehandlung der Tiere

Verwendet wurden Wistarratten zwischen 100- und 180 g schwer. Die Tiere erhielten Futter und Wasser ad libitum. Die Kontrollratten wurden nicht behandelt.

2.2.1 3,4-Benzpyrenvorbehandlung (9)

Die Tiere erhielten eine i.p. Gabe von Benzpyren. Die Dosierung betrug 20 mg Benzpyren/kg Körpergewicht. Benzpyren wurde in sterilisiertem Olivenöl verabreicht. Die Tiere wurden 24 h nach der Injektion getötet.

2.2.2 Phenobarbitalvorbehandlung (37, 50)

Die Tiere erhielten an vier aufeinanderfolgenden Tagen je 80 mg Phenobarbital/kg Körpergewicht i.p.. Am 5. Tage wurden die Tiere getötet.

2.2.3 Transstilbenoxidvorbehandlung (59)

Die Tiere erhielten an 6 aufeinanderfolgenden Tagen je 400 mg TSO/kg Körpergewicht i.p.. Das TSO war in sterilisiertem Sonnenblumenöl gelöst. Am 7. Tag wurden die Tiere getötet.

2.2.4 DDTvorbehandlung (24)

Drei Tiere erhielten eine Gabe DDT i.p. und wurden nach einer Woche getötet. Die Dosis betrug 1 g/kg Körpergewicht und war in sterilisiertem Olivenöl gelöst. Drei Tiere erhielten am ersten und vierten Tag je 100 mg DDT/kg Körpergewicht und wurden nach einer Woche getötet.

2.2.5 Rifampicinvorbehandlung (16)

Die Tiere erhielten an 5 aufeinanderfolgenden Tagen je 20 mg Rifampicin/kg Körpergewicht per os durch eine Magensonde verabreicht. 2 Tage nach der letzten Sondierung wurden die Tiere getötet.

2.3. Probanden

Es wurden Patienten der Med. Klinik Tübingen, der Chirurg. Klinik Tübingen und der Fachklinik Schillerhöhe, Stuttgart untersucht. Als Kontrollgruppe wurden Patienten eingestuft, die kein Rifampicin erhielten und keine Zeichen einer schweren Leberschädigung in der Histologie zeigten. Ausgesondert wurden Patienten mit einer Cholostase und mit Zeichen einer Hepatitis. Die Histologie der Patienten aus der Kontrollgruppe (15 Patienten) war im allgemeinen unauffällig, einige Patienten wiesen jedoch eine leichte bis mittelschwere großtropfige Leberzellverfettung auf.

Die Patienten der Rifampicingruppe (16 Patienten) erhielten die üblichen Dosierungen Rifampicin; INH, Ethambutol oder Gluronacid wurden im Rahmen der üblichen Dreifachtherapie der Tuberkulose dazu verabreicht. Die Histologie dieser Patientengruppe reichte über unauffällig und leichte Verfettung bis zur Fettleberhepatitis bzw. INH-Hepatitis (1 Patient). In der Rifampicingruppe befanden sich ausschließlich Männer, während die Kontrollgruppe drei Frauen und 12 Männer umfaßte. Die verabreichte Rifampicindosis betrug 10 mg Rifampicin/kg Körpergewicht.

2.4. Präparation der Mikrosomen

2.4.1 bei der Ratte

Die Mikrosomen wurden nach Schneider et al. (61), modifiziert nach DeDuve et al. (12) isoliert.

Die Leberproben der entbluteten Tiere wurden in eiskaltem SVT-Puffer (o,25 M Saccharoselösung mit 20 mM Tris und 1 mM EDTA) gewaschen und zerkleinert. Nach der Homogenisierung in SVT-

Puffer wurde fraktioniert in einer Kühlzentrifuge bei 4 ° C zentrifugiert, Zeiten: 10 min bei 500 x g, 10 min 7000 x g, 10 min 10 500 x g. Der Überstand wurde in ein Ultrazentrifugenröhrchen abpippetiert, das Sediment mit SVT-Puffer rehomogenisiert und erneut fraktioniert zentrifugiert. Auch dieser Überstand wurde in ein Ultrazentrifugenröhrchen abpippetiert. Die Überstände wurden dann bei 4 ° C im Vakuum mit 100 000 x g für 60 min zentrifugiert. Das Sediment mit der Mikrosomenfraktion wurde mit SVT-Puffer resuspendiert und bis zur Untersuchung bei - 18 ° C gelagert.

2.4.2 beim Menschen

Die Mikrosomen wurden nach Fleischmann et al (14) isoliert.

Verwendet wurden Punktionszylinder, die bei klinisch indizierten Laparaskopien gewonnen worden waren. Nach der Homogenisierung in SVT-Puffer wurden die Proben in einer Kühlzentrifuge bei 4 ° C fraktioniert zentrifugiert. Zeiten: 10 min 40 x g, 10 min 550 x g, 10 min 950 x g. Der Überstand wurde in Ultrazentrifugenröhrchen überführt, das Sediment resuspendiert und erneut unter den gleichen Geschwindigkeiten zentrifugiert. Auch dieser Überstand wurde in die Ultrazentrifugenröhrchen überführt. Die Überstände wurden in einer Ultrazentrifuge bei 4 ° C im Vakuum 60 min bei 100 000 x g zentrifugiert. Das Sediment, das die Mikrosomenfraktion enthält, wurde in SVT-Puffer resuspendiert und entweder bei - 18 ° C eingefroren oder gefriergetrocknet bis zur Untersuchung ebenfalls bei 18 °C aufbewahrt.

2.5. Mikrosomale Inkubationen

2.5.1 Messung der GGT im Serum und in den Mikrosomen (5, 52, 65)

Die Serumuntersuchungen wurden im Rahmen der allgemeinen Diagnostik und Behandlung in den Routinelabors der Kliniken durchgeführt. Es wurde jeweils der Wert genommen, der zeitlich am nächsten zum Punktionsdatum lag. Durchgeführt wurde die Bestimmung im Serum in Serienanalysatoren mit Testpackungen der Firma Boehringer Mannheim, Diagnostika.

Die Bestimmung der Aktivitäten in den Mikrosomen wurde in Mikroansätzen durchgeführt, um den Verbrauch an Mikrosomenlösung möglichst gering zu halten. Inkubiert wurden die Mikrosomen in den Küvetten mit Desoxycholatpuffer, um die höchstmögliche Aktivität zu erzielen (69).

Für die enzymatische Reaktion wurden folgende Lösungen einpippetiert:
20 µl Mikrosomenlösung
100 µl Puffer mit 0,1 mg Desoxycholat
Diese Mischung wurde für 10 min bei Zimmertemperatur inkubiert.
200 µl Substratlösung wurd hinzugefügt, gemischt und die Messung bei 25 ^{o} C und 405 nm mit einem Eppendorfphotometer und einem Schreiber durchgeführt.

$$\text{Aktivitätsberechnung} = \frac{\text{Ext-zunahme/min X Gesamtvolumen}}{\text{9900 X Mikrosomeneinsatz}}$$

9900 = Extinktionskoeffizient

Endkonzentrationen im Test:			in Substratlsg.
L-Gamma-Glutamyl-p-nitroanilid		4 mMol/l	4,26 mMol/l
Glycylglycin		40 mMol/l	42,6 mMol/l
Trispuffer	pH 8,25	185 mMol/l	197,3 mMol/l

2.5.2 Messung des Gehaltes an Cytochrom-P-450 (62)

Das Cytochrom-P-450-Differenzspektrum wurde wiedergegeben mit einem Aminco-Dual-Wavelength-Split-Beam-Recording Spektrophotometer. Verwendet wurden M 2 Eppendorfküvetten, die ca. 250 µl Volumen haben.

Beide Küvetten enthalten etwas Na-Dithionit. Sie sind mit Mikrosomensuspension, die 1:6 mit KCl-Trispuffer verdünnt wurde, gefüllt. Nach der Schreibung der Basislinie wird die Sample-Küvette mit CO ca. 1/2 bis 1 min begast und das Spektrum des Cytochrom-P-450-Fe^{2+}-CO-Komplexes aufgezeichnet.

$$\text{Berechnung: } \frac{\text{E X Verdünnungsfaktor}}{\text{X mg Prot X d}} = \text{nMol/mg mikr. Prot.}$$

$$= 91 \times 10^6 \text{ Mol}^{-1} \text{ cm}^2$$

2.5.3 Messung der NADPH-Cytochrom-c-Reduktase

Verwendet wurde der Test nach Schöne et al (62) modifiziert nach Williams (72).

Die Aktivität dieses Enzyms wurde mit dem Aminco-Dual-Wavelength-Splitbeam-Recording Spektrophotometer bei 550 nm gemessen und geschrieben.

Für die enzymatische Reaktion wurden folgende Lösungen in die Küvette einpipettiert:

200 µl Trispuffer, pH 7,5
50 µl KCN 1mM
50 µl Cytochrom. c, 6 mg/ml = 21 x 10^6 Mol^{-1} cm^2
10 µl Mikrosomenlösung (evtl. verdünnt)
Diese Mischung wurde bei 37 °C 5 min lang vorinkubiert.

5 µl NADPH 2,2 mg/ml (immer frisch), damit erfolgt der Start der Messung

Berechnung: $$\frac{E \times \text{Totalvolumen} \times 60 \times \text{Verdünnungsfaktor}}{\varepsilon \times \text{Samplevolumen} \times d \times t \times \text{mg Prot/ml}}$$

= µMol/mg Protein $\varepsilon = 21 \times 10^6\ \text{Mol}^{-1}\text{cm}^2$

Endkonzentrationen im Test bei 300 µl Totalvolumen

Cytochrom c	0,121	mM
NADPH	100	mM
KCN	1	mM

NADPHund Cytochrom c wurden von der Firma Boehringer Mannheim bezogen.

2.5.4 Messung der Arylhydrokarbonhydroxylase

Die Messung erfolgte nach der Methode von Gielen et al. (18).

Verwendet wurde das Spektrofluorometer, bei einer Excitationswellenlänge von 396 nm,und einer Emmissionswellenlänge von 522 nm.. Das Gerät wurde mit Chininsulfat geeicht.

Ansatz in Eppendorf Reaktionsgefäßen:

0,1 ml K-Phosphatpuffer, 0,31 M, pH 7,2
20 µl NADPH, 5,6 µMol/ml
20 µl NADP, 6 µMol/ml
50 µl $MgCl_2$, 354,3 mg/200 ml
20 µl Rinderserumalbulmin,60 mg/10 ml H_2O
70 µl Phosphatpuffer
Diese Mischung 6 min bei 37 °C vorinkubieren
10 µl Mikrosomenlösung 1:5 verdünnt,
nun 6 min bei 37 °C inkubieren
10 µl Benzpyren, 2,48 µl/ml
nun gut mischen und nach 6 min das Gemisch 4 min lang schütteln.

300 µl Aceton eiskalt
900 µl Hexan
20 min schütteln, anschließend zentrifugieren
700 µl der organischen Phase abpipettieren
500 µl NaOH 1m
1 min schütteln, zentrifugieren, obere Phase absaugen, untere Phase genau 10 min nach NaOH Zugabe messen.

Beim Pipettieren des Leerwertes wird das Benzpyren erst nach der Acetonzugabe einpipettiert.

$$\text{Berechnung: } \frac{\text{gemess. Fluor. Einheiten X Verdünnung X 9000}}{\text{Samplevolumen X inkub. Zeit X d X 7}}$$

= Fluoreszenzeinheiten/ml Stammlösung

2.5.5 Proteinbestimmung nach Lowry et al. (38)

Makromethode für Rattenmikrosomen

Die Messung erfolgte mit einem Eppendorf Photometer bei 691 nm und Zimmertemperatur. Zur Messung wurde ein Teil des Testansatzes in Küvetten mit 1 cm Schichtdicke überführt.

Testansatz:
0,2 ml Proteinlösung (stark verdünnt)
0,2 ml NaOH, 1 n
2,0 ml Alk. Cu-Reagenz, 2 % Na_2CO_3, 0,025 % Na-K-Tartrat
0,01 % $Cu\,SO_4$ + 5 H_2O immer frisch
10 min stehen lassen
0,2 ml Folin-Ciocalteu Reagenz (1:1 mit Wasser verdünnt), sofort mischen und 30 min stehen lassen

Der Leerwert wird mit H_2O angesetzt. Die Eichung erfolgte mit eine Albuminverdünnungsreihe. Bei jeder Messung wurde eine Kontrolle mit bekanntem Proteingehalt mitgeführt.

$$\text{Berechnung:} \frac{F \times 1000 \times E}{\text{Samplevolumen in } \mu l} = \text{mg Prot/ml}$$

Fwird aus der Eichkurve berechnet:

$$F = \frac{\gamma \text{ Prot im Samplevolumen}}{\text{Extinktion}}$$

Mikromethode für menschliche Mikrosomen

Testansatz:

2,63 µl Proteinlösung
19 µl H_2O
20,5 µl Trichloressigsäure 10 %
mischen, 2 min zentrifugieren, absaugen
20,5 µl NaOH 0,1 n dem Präzipitat zufügen, 30 min stehen lassen, dann schütteln
200 µl alk. Cu-Reagenz, wie beim Makroansatz, nur mit 0,02 % Cu, 10 min stehen lassen,
20,5 µl Folin-Reagenz, 1:1 mit H_2O verdünnt.
sofort mischen, nach 45 min messen.

Die übrigen Bedingungen wie beim Makroansatz.
Das Folin-Ciocalteau Reagenz stammt von der Firma Merck.

2.6 Statistik

Alle Enzymbestimmungen sind Mehrfachbestimmungen, von denen der Mittelwert einer Probe ohne Angabe der Streuung angegeben wurde (siehe Liste 1 im Anhang für die Ratten und Liste 2 für die Probanden). Bei Doppelbestimmungen betrug die Abweichung im Mittel 5,5 %.
Die Ratten einer Versuchgruppe wurden zu einem Mittelwert zusammengefaßt und zusammen mit der Standardabweichung angegeben, als Maß für die Streuung. Ebenso wurde mit den Resultaten bei den Menschen verfahren.

Die statistische Auswertung der annähernd normalverteilten Daten wurde mit dem t-Test nach Student für zwei unabhängige Stichproben vorgenommen. Bei der Berechnung der Quantile der t-Verteilung wurde für den Fehler 1. Art die Wahrscheinlichkeit von $\alpha = 0{,}05$ bei beidseitiger Betrachtung angenommen.

Bei den Ratten wurde ein sog. multipler Vergleich durchgeführt. Dazu wurde der Test von Dunnet benutzt. Auch hier wurde die Wahrscheinlichkeit für den Fehler 1. Art mit $\alpha = 0{,}05$ bei beidseitiger Betrachtung angesetzt. (40)

3. Ergebnisse bei der Ratte

3.1 Vorversuche mit der GGT

3.1.1 Proteinabhängigkeit

Zur Überprüfung der Proteinabhängigkeit wurde Mikrosomenlösung der Ratte K 6 (siehe Anhang) mit SVT-Puffer stufenweise verdünnt und davon verschiedene Volumina in den Test eingesetzt. Es ergab sich eine Linearität der Enzymaktivität im Bereich von 0 - 4,4 mg mikr. Protein/ml. Dieser Bereich erwies sich für fast alle Mikrosomenlösungen als ausreichend. Drei Mikrosomenlösungen überschritten im Verlauf der Versuche 5 mg mikr. Protein, diese wurden durch Verdünnung auf Werte unter 4 mg mikrosomales Protein gebracht. Die Linearität der Enzymaktivität kann aus Abb. 1 entnommen werden.

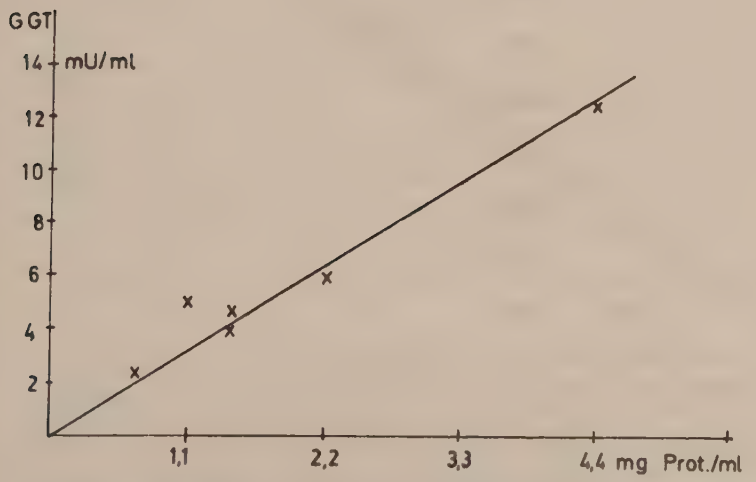


Abb. 1. Darstellung der Proteinabhängigkeit der GGT in der Mikrosomenlösung der Ratte K 6

3.1.2 K_M Wert der GGT in Mikrosomen

Die Michaeliskonstante wurde nach Lineweaver-Burk graphisch ermittelt (Abb. 2). Sie zeigte eine geringe Streuung für die drei verwendeten Mikrosomensuspensionen (0,96, 1,025, 1,05). Diese Werte weichen geringfügig von der Michaeliskonstanten im Serum ab (K_M = 0,98) (65). Die Angabe der Michaeliskonstanten erfolgt in mMol/l.
Die Messungen erfolgten bei verschiedenen Konzentrationen von L-Gamma-Glutamyl-p-nitroanilid (S).

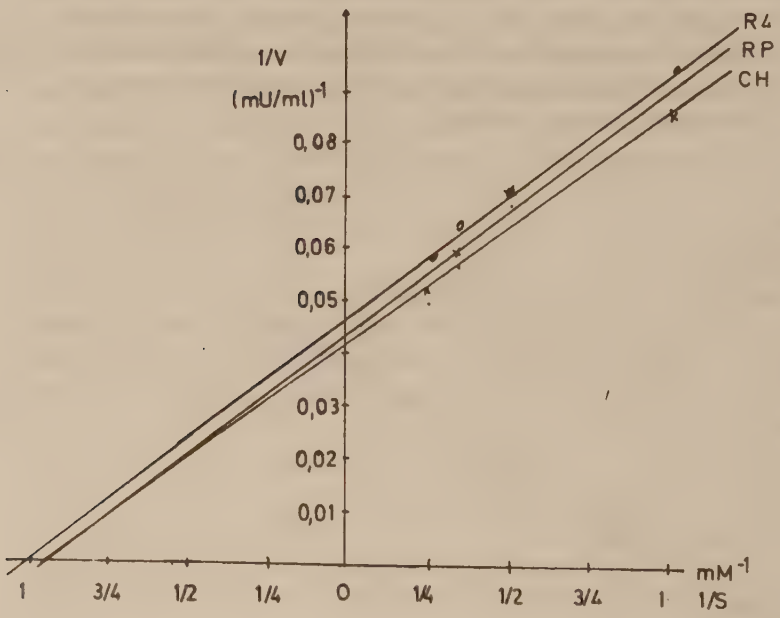


Abb. 2. Graphische Ermittlung der Michaeliskonstanten der GGT aus Mikrosomenlösungen von Ratte und Mensch. Auftragung nach Lineweaver und Burk. Angegeben sind die Werte der Ratte K 4, der Ratte Pb 1 und eines Probanden Ch 19.

3.1.3 Linearität der GGT im Versuch, Zeitabhängigkeit

Bei Dauerversuchen bis 100 bzw. 150 min Laufzeit der Enzymreaktion wurde unter konstanten Versuchsbedingungen ein linearer Verlauf gesehen. Es wurden zwei verschiedene Mikrosomenlösungen eingesetzt, die Aktivitäten betrugen 134,6 bzw. 12,7 mU/ml Mikrosomenlösung.

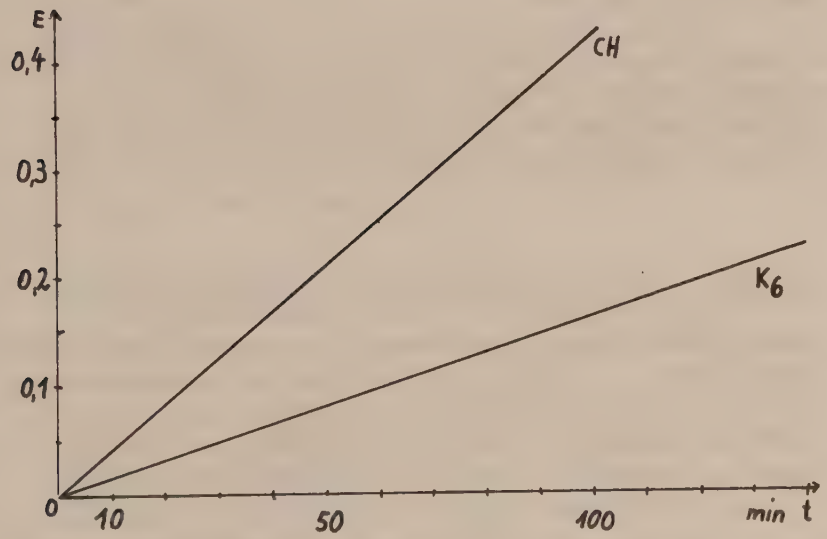


Abb 1 a. Linearität der GGT im Versuch bei Mikrosomenlösungen der Ratte K 6 und des Probanden CH 19. Der Pat. CH 19 hatte eine Aktivität von 64,9 mU/mg Protein, Die Kontrollratte 6 2,42 mU/mg Protein. Es handelt sich um 2 Einzelproben.

3.1.4 Einfluß des Aufbewahrungsmodus und der Vorbehandlung auf die Aktivität der GGT

Die Mikrosomenlösung wurde nach unterschiedlicher Vorbehandlung auf ihre GGT-Aktivität geprüft. Die Mikrosomen von 5 Kontrollratten wurden jeweils frisch, nach Frieren bei - 20 ^{o} C, nach 3-maligem Frieren und Auftauen in Trokkeneis/Aceton und nach Gefriertrocknung gemessen. Die Messung erfolgte hier immer mit Zusatz von Desoxycholat. Zusätzlich wurden die Mikrosomen, die bei - 20 ^{o} C aufbewahrt worden waren, ohne Zusatz von Desoxycholat untersucht (Tab.1).

Es ergab sich, daß durch den Zusatz von Desoxycholat bereits die maximalen Aktivitäten erreicht wurden. Eine leichte Steigerung, die jedoch nicht signifikant war, ließ sich mit eingefrorenen Mikrosomensuspensionen nachweisen.

frisch mit Desoxy	gefroren mit Des.	3xgefroren mit Desoxy.	gefriergetrocknet mit Desoxy	gefroren ohne Desoxy
2,898 ± 0,56	3,04 ± 0,49	2,87 ± 0,65	2,998 ± 0,56	2,794 ± 0,61

Tab. 1. Aktivitäten der GGT (mU/mg mikr. Prot.) nach unterschiedlicher Vorbehandlung. Angegeben sind die Mittelwerte und die Standardabweichung ($\bar{x} \pm s_D$) von 5 Kontrollratten.

3.2 Bestimmung der Aktivität der GGT bei Kontrollratten und induzierten Ratten (Vorbehandlung mit Rifampicin, TSO, Phenobarbital, DDT und 3,4-Benzpyren

Die Ratten wurden durch Gabe von Rifampicin, TSO, Phenobarbital, DDT und Benzpyren vorbehandelt (siehe 2.2). Lebermikrosomen dieser Ratten wurden zu den folgenden Untersuchungen verwendet. Bestimmt wurden die Aktivität der GGT, die Aktivität der Arylhydokarbonhydroxylase und der Gehalt an Cytochrom P 450. In Tab. 2 sind die gemessenen Werte zusammengestellt.

Die Werte der mit Rifampicin vorbehandelten Ratten betrugen im Mittelwert 2,63 ± 0,4 mU/mg mikr. Protein. Sie unterschieden sich somit nicht von den GGT Aktivitäten der unbehandelten Kontrollratten. Ebenso verhielten sich die GGT Aktivitäten der mit DDT vorbehandelten Ratten, die eine mittlere GGT Aktivität von 2,35 ± 0,65 mU/mg mikr. Prot. aufweisen.

Bei den mit Phenobarbital vorbehandelten Ratten zeigten sich GGT Aktivitäten von 3,41 ± 0,56 mU/mg mikr. Prot. Die GGT-Werte, der mit 3,4-Benzpyren behandelten Ratten unterschieden sich mit Werten von 3,321 ± 0,39 mU/mg mikr. Prot. nur geringfügig von den Phenobarbitalratten. Auch die GGT Aktivitäten der Ratten, die mit TSO, einem spezifischen Induktor der Epoxidhydratase (59), behandelt worden waren, bewegten sich im gleichen Bereich mit 3,42 ± 0,91 mU/mg mikr. Prot..

Die Ergebnisse der vorbehandelten Ratten wurden durch den multiplen Vergleich nach Dunnet auf signifikante Unterschiede zu den Kontrollratten überprüft. Die Ergebnisse sind in Tab. 3 aufgelistet.

	GGT Mic mU/mg mikr. Prot	AHH Mic FE/mg Prot	Cyt.P 450 nMol/mg Prot
K	2,57 ± 0,36 n = 10	429 ± 150 n = 7	0,69 ± 0,19 n = 3
BP	3,321 ± 0,39 n = 5	802 ± 267 n = 5	--
PB	3,41 ± 0,56 n = 6	956 ± 144 n = 6	2,67 ± 0,87 n = 4
Rifa	2,63 ± 0,4 n = 5	498 ± 146 n = 5	--
TSO	3,42 ± 0,91 n = 5	535 ± 99 n = 5	0,97 ± 0,29 n = 5
DDT	2,35 ± 0,65 n = 6	796 ± 76 n = 6	--

Tab. 2. Aktivität der GGT und der AHH und die Menge von Cytochrom-P-450 in Lebermikrosomen von Kontrollratten und durch verschiedene Induktoren vorbehandelter Ratten (Mittelwerte und Standardabweichung $\bar{x} \pm s_D$)

	BP	PB	Rifa	TSO	DDT
	n = 5	n = 6	n = 5	n = 5	n = 6
K	t = 2,47	t = 2,93	t = 0,21	t = 2,80	t = 0,715

n=10 $t_{31} = 2,67$

Tab. 3. Ergebnisse des multiplen Vergleichs nach Dunnet für unverbundene Stichproben für GGT in der Leber der Ratten, die Quantile für p = 0,975, dies entspricht einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ für die zweiseitige Betrachtung.

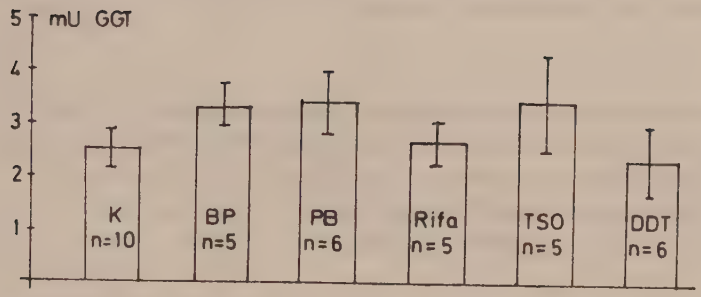


Abb. 3. Blockdiagramm mit den Aktivitäten der GGT in der mikrosomalen Fraktion der Rattenleber bei Kontrolltieren und bei vorbehandelten Tieren. (Mittelwerte und Standardabweichung) $\bar{x} \pm s_D$

Die GGT Aktivitäten der mit TSO und mit Phenobarbital vorbehandelten Ratten waren gegenüber den Werten der Kontrollratten signifikant erhöht. Demgegenüber waren die Aktivitäten der GGT bei den Ratten, die mit DDT, 3,4-Benzpyren oder Rifampicin vorbehandelt worden waren, nicht signifikant erhöht.

Bei den mit Phenobarbital induzierten Ratten waren die Aktivitäten der GGT/mg mikr. Prot. um den Faktor 1,3 erhöht. Ein ähnlicher Anstieg fand sich in den Mikrosomen von mit TSO induzierten Ratten. Bei den mit 3,4-Benzpyren induzierten Ratten scheint ebenfalls die GGT-Aktivität erhöht zu sein, jedoch konnte eine Signifikanz nicht ermittelt werden.

3.3 Bestimmung der Aktivität der Arylhydrokarbonhydroxylase und des Gehalts an Cytochrom-P-450 bei Kontrollratten und induzierten Ratten.

Die Ergebnisse der mikrosomalen Enzymbestimmungen wurden in Tab. 2 aufgeführt. Die Bestimmung der AHH wurde bei fast allen Ratten vorgenommen, der Gehalt an Cytochrom - P-450 konnte wegen Mangels an Mikrosomenlösung nur bei einigen Ratten durchgeführt werden.

Auch diese Ergebnisse wurden mit Hilfe des multiplen Vergleichs nach Dunnet für unverbundene Stichproben überprüft. Hier zeigten sich bis auf die AHH Werte der Ratten, die mit Rifampicin und TSO behandelt worden waren, überall signifikante Unterschiede. Die Ergebnisse sind in Tab. 4 aufgeführt.

Wegen der geringen Anzahl von Werten wurde beim Gehalt an Cytochrom-P-450 keine Signifikanzberechnung durchgeführt. Hier war jedoch der Trend zu erkennen, daß der Gehalt an Cytochrom-P-450 bei den vorbehandelten Ratten höher war als bei den Kontrollratten.

	BP	PB	Rifa	TSO	DDT
	n = 5	n = 6	n = 5	n = 5	n = 6
K n =7	t = 4,08	t = 6,07	t = 0,75	t = 1,16	t = 4,22

$t_{28} = 2,267$

Tab. 4. Ergebnisse des multiplen Vergleichs nach Dunnet für unverbundene Stichproben für die AHH in der Leber von Ratten. Angegeben sind die Quantile für p = 0,975, dies entspricht einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ für die zweiseitige Betrachtung.

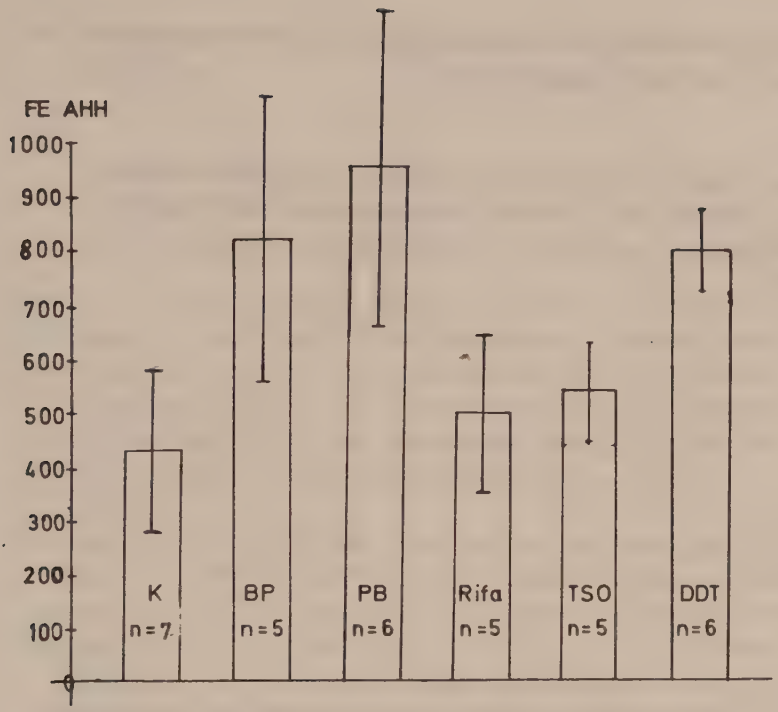


Abb. 4. Blockdiagramm der Aktivitäten der AHH in der mikrosomalen Fraktion der Rattenleber. Angegeben sind die Mittelwerte und die Standardabweichung ($\bar{x} \pm s_D$).

Bei den mit Phenobarbital induzierten Ratten waren die Aktivitäten der AHH/mg mikr. Prot. im Vergleich mit den Kontrollratten um den Faktor 2,23 erhöht. In der gleichen Größenordnung lag der Faktor der Ratten, die mit Benzpyren vorbehandelt worden waren, der 1,87 betrug. TSO induzierte nicht, DDT dagegen um den Faktor 1,85, der gleiche wie bei Benzpyren. Die Ratten, die mit Rifampicin behandelt worden waren, zeigten keinen Induktionseffekt.

Der Gehalt an Cytochrom-P-450 war bei den mit Phenobarbital behandelten Ratten 3,86 mal höher als bei den Kontrollen. Auch TSO erhöht den Gehalt an Cytochrom-P-450 und zwar auf das 1,5fache des Kontrollwertes.

3.4 Korrelationen der Enzymaktivitäten bei Bestimmungen mit Rattenlebermikrosomen

Es wurde untersucht ob die Ergebnisse unterschiedlicher Enzymbestimmungen in Rattenlebermikrosomen miteinander korrelieren. Die Tabelle 5 gibt über die Ergebnisse Auskunft.

K	r = 0,55	n= 7
BP	r = 0,22	n = 5
PB	r = 0,81	n = 6
Rifa	r = 0,17	n = 5
TSO	r = 0,41	n = 5
DDT	r = 0,55	n = 6

Tab. 5. Lineare Korrelationskoeffizienten für die GGT/AHH bei Rattenlebermikrosomen. Die Gleichung der Korrelationsgerade lautet: $y = ax + b$

Obwohl nur ein kleines Kollektiv untersucht wurde, legt die sehr schlechte Korrelation zwischen GGT und AHH beidden BP-induzierten Ratten nahe, daß hier keine Beziehung zwischen diesen mikrosomalen Enzymen besteht, während dies bei Phenobarbitalinduktion und bei Kontrollratten offensichtlich der Fall ist.

Die AHH scheint sowohl die Aktivität der Cytochrom P450 als auch der Cytochrom P448 wiederzuspiegeln. Die gute Korrelation bei Phenobarbitalinduktion wäre damit ein Ausdruck eines parallelen Anstiegs von Cytochrom P450 und der GGT. Nach BPinduktion wird die - bei Kontrolltieren in relativ niedriger Konzentration vorliegende P448 Form besonders stark induziert. Dies geht offensichtlich nicht mit einem Anstieg der GGT einher.

4. Ergebnisse beim Menschen mit und ohne Rifampicinbehandlung

4.1 Vorbemerkungen

Es stellte sich heraus, daß die Probanden nicht nur in Gruppen mit und ohne Rifampicin unterteilt werden mußten, sondern auch noch in Untergruppen mit und ohne Alkohol. Alkohol beeinflußt sowohl die Serumaktivität als auch die Aktivität der GGT in den Mikrosomen (34, 69). Es wurde deshalb folgende Gruppierung vorgenommen:

Gruppe 1a: alle Probanden ohne Rifampicin und ohne Alkohol
Gruppe 1b: alle Probanden ohne Rifampicin und mit Alkohol
Gruppe 2a: alle Probanden mit Rifampicin und ohne Alkohol
Gruppe 2b: alle Probanden mit Rifampicin und mit Alkohol

Durch diese differenzierte Betrachtung wurden einerseits die Gruppen klein, so daß teilweise nicht immer statistische Auswertungen vorgenommen werden konnten, andererseits konnte so eine bessere Homogenität des Patientenmaterials innerhalb einer Gruppe erreicht werden, wodurch die Interpretation und die Aussagekraft der Ergebnisse verbessert wurde. Es konnte zusätzlich nicht regelmäßig von allen Probanden alle mikrosomalen Parameter bestimmt werden, da die Ausbeute an Mikrosomen aus dem Leberbiopsiematerial von Menschen manchmal sehr gering war und die Mikrosomensuspension nicht für alle Enzymtests ausreichte.

4.2 Bestimmung der Aktivitäten der GGT bei Patienten mit und ohne Rifampicinbehandlung

Die Probanden wurden aus klinischen Gründen punktiert. Ein Teil des Punktates wurde an den Histologen gesandt, der andere Teil wurde aufgearbeitet und die Mikrosomen wurden isoliert. Tab. 6 enthält die Mittelwerte und die Standardabweichungen der GGT-Werte in der mikrosomalen Fraktion. Alle Bestimmungen wurden doppelt vorgenommen und der Mittelwert verwendet. Die Einzelwerte für jeden Patienten finden sich in der Tabelle im Anhang. (s.S. 56)

Die Werte der mit Rifampicin behandelten Patienten, die keinen Alkohol zu sich nahmen (Gr. 2a), lagen bei 110 ±41,71 mU/mg mikr. Prot und lagen damit signifikant, wie aus Tab. 7 zu entnehmen ist, über den Werten der Kontrollprobanden, die keinen Alkohol und keine Rifampicinbehandlung erhalten hatten (Gr. 1a). Hier betrug der Mittelwert 54,9 ± 11,05 mU/mg mikr. Prot. Die GGT lag bei den Probanden, die Rifampicin erhalten hatten, um den Faktor 2 höher als bei den unbehandelten Probanden.

Demgegenüber unterschieden sich die Serumwerte der GGT der beiden Gruppen um den Faktor 2,5, die Unterschiede waren hier größer. Der Mittelwert der Serumkonzentrationen der Kontrollprobanden (Gr. 1a) lag bei 14,2 ± 7,53 mU GGT/ml, der Mittelwert bei mit Rifampicin behandelten Probanden betrug 35,2, ± 16 mU/ml. Auch diese Ergebnisse waren im t-Test für unverbundene Stichproben nach Student signifikant (Tab. 7).

Die Serumaktivitäten bei den Probanden, die Alkohol zu sich genommen hatten, waren im Gegensatz hierzu bei der Rifampicingruppe nicht signifikant unterschiedlich zu denen der Kontrollgruppe.

	GGT Mic mU/mg Prot.		GGT Serum mU/ml	
Gr. 1a	54,9 ± 11	n = 6	14,2 ± 7,53	n = 5
Gr. 1b	68,58 ± 24,1	n = 4	48,7 ± 32	n = 4
Gr. 2a	110 ± 41,7	n = 7	35,3 ± 16	n = 7
Gr. 2b	80,4 ± 22	n = 9	55,7 ± 18,5	n = 9

Tab. 6. Aktivitäten der GGT im Serum verglichen mit den Aktivitäten der GGT in Mikrosomen aus Leberbiospiematerial. Mittelwerte und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s_D$).

	Mic GGT	Serum GGT
Gr. 1a und 2a	t = 3,13 t_{11} = 2,201	t = 2,7 t_{10} = 2,228
Gr. 1b und 2b	t = 0,72 t_{11} = 2,201	t = 0,57 t_{10} = 2,228

Tab. 7. Ergebnisse des t-Test für unverbundene Stichproben nach Student für die Aktivitäten der GGT in den Mikrosomen und im Serum bei den Probanden. Angegeben sind die Quantile für p = 0,975, dies entspricht einem Signifikanzniveau von α = 0,05 bei zweiseitiger Betrachtung.

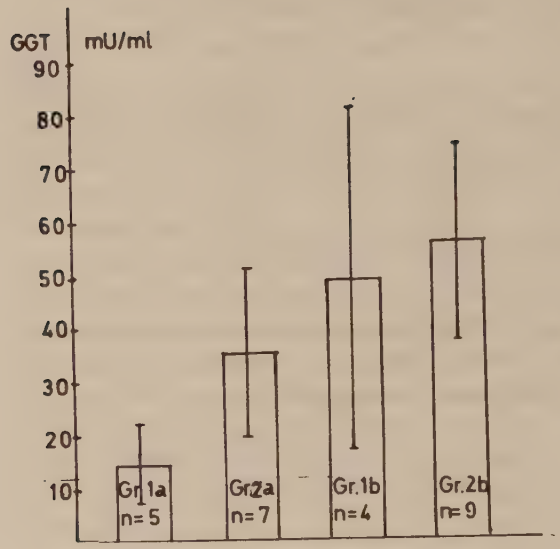


Abb. 5. Blockdiagramm der Aktivitäten der Serum- GGT bei Patienten mit und ohne Rifampicin. Angegeben sind die Mittelwerte und die Standardabweichung ($\bar{x} \pm s_D$).

Die Aktivität der GGT in der mikrosomalen Fraktion bei Patienten, die kein Rifampicin erhalten hatten und Alkohol zu sich genommen hatten (Gr. 1b), betrugen im Mittel 68,58 $\pm$ 24.05 mU/mg mikr. Prot.. Die Probanden, die auch noch Rifampicin erhalten hatten (Gr. 2b), hatten Aktivitäten von 80,4 $\pm$ 22 mU GGT/mg mikr. Prot.. Der Faktor, um den sich die beiden Gruppen unterscheiden, beträgt 1,17 und ist zu gering, um verwertet werden zu können. Wie zu erwarten, waren diese Werte im t-Test nicht signifikant (Tab. 7).

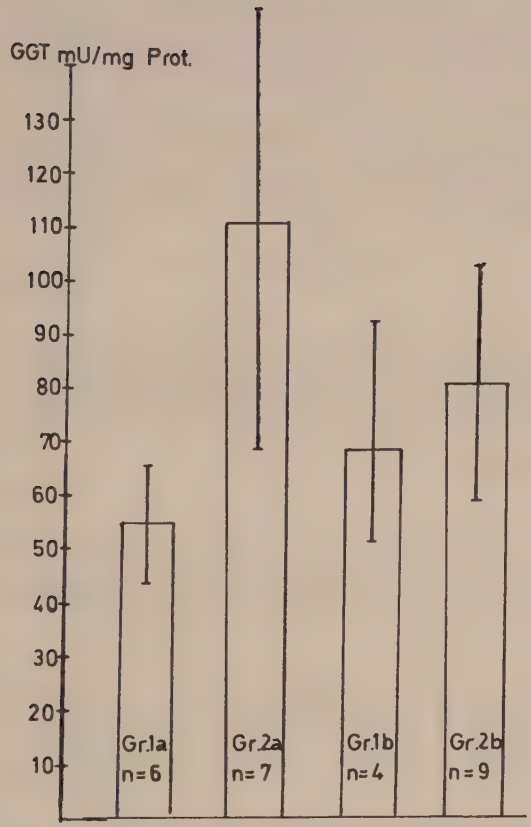


Abb. 6. Blockdiagramm der Aktivitäten der GGT in der mikrosomalen Fraktion der Leber bei Patienten. Angegeben sind die Mittelwerte und die Standardabweichung ($\bar{x} \pm s_D$).

Auch die Serummittelwerte unterschieden sich bei diesen Gruppen nicht wesentlich voneinander. Sie betrugen bei Gruppe 1b, die nur Alkohol zu sich genommen hatte, 48,7 ± 32 mU GGT/ml und bei der Gruppe 2b, die zusätzlich mit Rifampicin behandelt worden waren, im Mittel 55,7 ± 18,5 mU GGT/ml. Wie zu erwarten, konnte auch hier keine Signifikanz ermittelt werden.

4.3 Bestimmung der Aktivität der AHH und der Aktivität der Cytochrom-c-Reduktase bei Patienten mit und ohne Rifampicinbehandlung

Bei dem größten Teil der Patienten konnte noch eine Bestimmung der AHH und der Cytochrom-C-Reduktase vorgenommen werden. Die Werte sind in Tab. 8 aufgeführt.

Auch hier zeigten sich Induktionseffekte, die jedoch so deutlich waren, daß auf eine Unterteilung in Probanden mit und ohne Alkoholgenuß hätte verzichtet werden können.

Die AHH Aktivitäten der Gruppe 1a betrugen im Mittel 59,06 ± 20,29 FE/mg mikr. Prot., die Gruppe 2a hatte eine Aktivität von 351 ± 175 FE/mg mikr. Prot.. Bei der Überprüfung mit dem t-Test für unverbundene Stichproben nach Student ergab sich hier, wie zu erwarten ein hochsignifikanter Unterschied (Tab. 9).

In der zweiten Vergleichsgruppe, die aus den Gruppen 1b und 2b besteht, waren die Werte ebenfalls hochsignifikant verschieden (Tab. 9). Gruppe 2b hatte eine

	AHH Mic FE/mg mic. Prot.		Cyt.-c-Red. µMol/mg	
Gr. 1a	59,06 ± 20,29	n = 5	0,19 ± 0,1	n = 4
Gr. 1b	36,5 ± 10,61	n = 2	0,17 ± 0,05	n = 3
Gr. 2a	351 ± 175	n = 5	0,3 ± 0,09	n = 5
Gr. 2b	284,1 ± 110	n = 7	0,28 ± 0,07	n = 7

Tab. 8. Aktivitäten der AHH und der Cytochrom-c-Reduktase in den Mikrosomen aus Leberbiopsiematerial. Angegeben sind die Mittelwerte und die Standardabweichung ($\bar{x} \pm s_D$).

	AHH Mic	Cytochrom-c-Red. Mic
Gr. 1a u. 2a	t = 3,7 t_8 = 2,306	t = 1,75 t_7 = 2,3365
Gr. 1b u. 2b	t = 3,02 t_7 = 2,365	t = 2,44 t_8 = 2,306

Tab. 9. Ergebnisse des t-Test für unverbundene Stichproben für die Aktivitäten der AHH und der Cytochrom-c-Reduktase. Angegeben sind die Quantile für p = 0,975, dies entspricht einem Signifikanzniveau von α = 0,05 bei zweiseitiger Betrachtung.

AHH Aktivität von 284,2 ± 110 FE/mg mikr. Prot. und die Gruppe 1b wies eine AHH Aktivität von 36,5 ± 10,61 FE/mg mikr. Prot. auf.

Die Aktivitäten der AHH bei den Probanden, die Rifampicin erhalten hatten, waren in den einzelnen Gruppen etwas unterschiedlich. Zwischen Gruppe 1a und Gruppe 2a betrug der Faktor, um den die mit Rifampicin behandelten Probanden höher lagen, 5,9. Zwischen Gruppe 1b und Gruppe 2b betrug der Faktor 7,7.

Bei der Bestimmung der Aktivitäten der Cytochrom-c-Reduktase ergaben sich ähnliche Verhältnisse. Auch hier waren hochsignifikante Ergebnisse bei der Aufteilung in Gruppen mit und ohne Alkohol nachweisbar (Tab. 9).

Bei der Gruppe 1a ergab sich eine Aktivität von 0,19 ± 0,1 µMol/mg mikr. Prot.. Bei der Vergleichsgruppe 2a ergab sich ein Mittelwert von 0,3 ± 0,09 µMol/mg mikr. Prot.. Dieser Wert war im t-Test nicht signifikant erhöht, was wohl auf die große Standardabweichung zurückzuführen sein dürfte.

Bei der Gruppe 1b ergab sich eine mittlere Aktivität der Cytochrom-c-Reduktase von 0,17 ± 0,05 µMol/mg mikr. Prot., bei der Vergleichsgruppe 2b betrug die mittlere Aktivität 0,28 ± 0,07 µMol/mg mikr. Prot.. Hier war der Unterschied hochsignifikant.

Der Wert der Gruppe 2b ist gegenüber dem Wert der Gruppe 1b um den Faktor 1,55 erhöht.

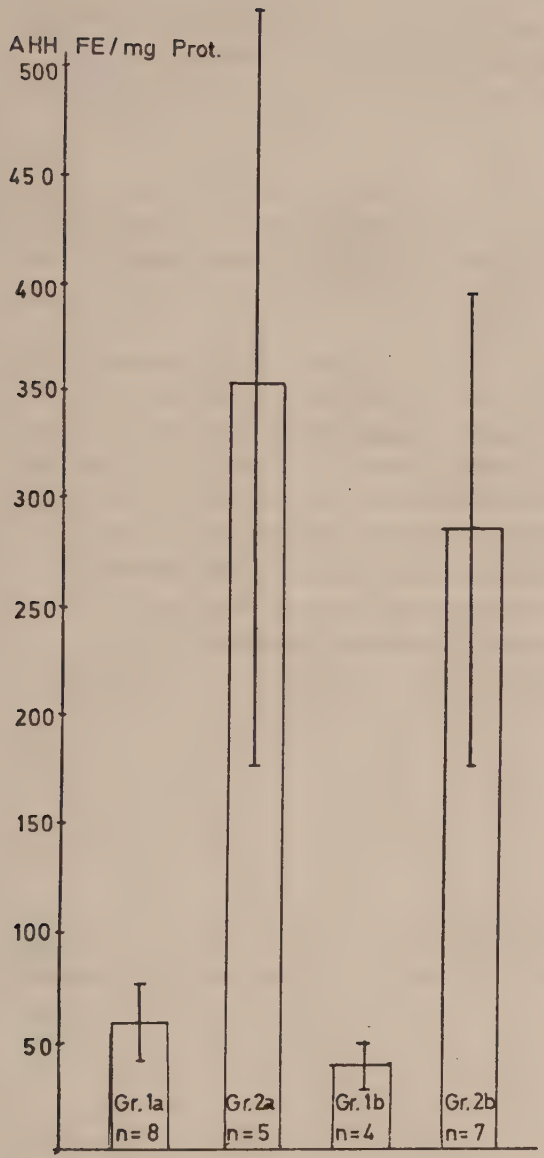


Abb. 7. Blockdiagramm der Aktivitäten der AHH in der mikrosomalen Fraktion der Leber bei Probanden mit und ohne Rifampicinbehandlung. ($\bar{x} \pm s_D$).

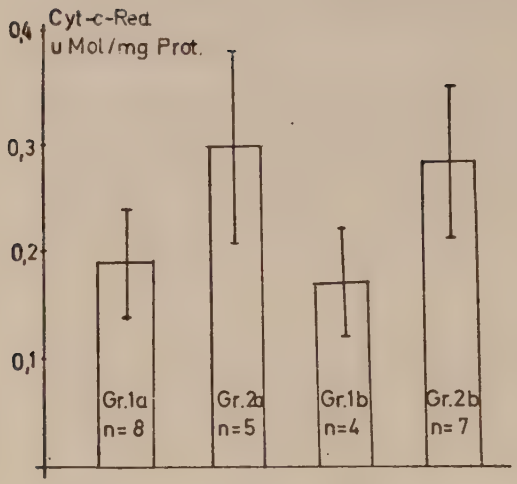


Abb. 8. Blockdiagramm der Aktivitäten der Cytochrom-c-Reduktase in der mikrosomalen Fraktion der Leber von Probanden mit und ohne Rifampicinbehandlung. Mittelwerte und Standardabweichung sind angegeben ($\bar{x} \pm s_D$).

4.4 Korrelationen der Enzymaktivitäten in der mikrosomalen Fraktion der Leber und der Serum -GGT beim Menschen mit und ohne Behandlung mit Rifampicin

Beim Versuch, die Aktivitäten der GGT im Serum mit der Aktivität in der mikrosomalen Fraktion der Leber von Probanden zu korrelieren, ergaben sich unterschiedliche Korrelationskoeffizienten, die von 0,01 bis zu 0,9 reichten.

Die Korrelation der Serum-GGT mit der GGT der mikrosomalen Fraktion war am besten bei der Berechnung der ln-Beziehung(Tab. 10). Allerdings fällt die Gruppe 2b mit einem sehr niedrigen Koeffizienten aus dieser allgemeinen Feststellung heraus. Die lineare Korrelation, die von 0,14 bis 0,87 schwankte, war nicht günstiger.

	Gr. 1a n = 5	Gr. 1b n = 3	Gr. 2a n = 7	Gr. 2b n = 9
Mic/Ser linear	r = 0,87	r = 0,76	r = 0,3	r = 0,14
Ser/Mic ln	r = 0,92	r = 0,65	r = 0,54	r = 0,01

Tab. 10. Liste der Korrelationskoeffizienten zwischen Serumaktivitäten und Aktivitäten der mikrosomalen Fraktion der Leber für das Enzym GGT.

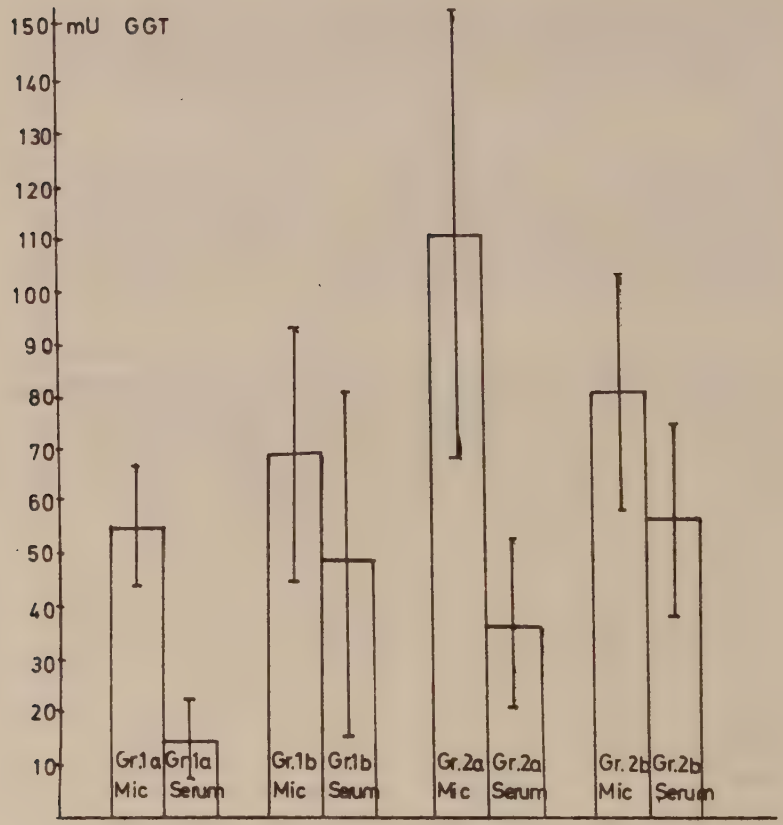


Abb. 9. Blockdiagramm mit den Aktivitäten der GGT in der mikrosomalen Fraktion und im Serum. Angegeben sind die Mittelwerte und die Standardabweichung ($\bar{x} \pm s_D$).

Die Korrelationsversuche mit den anderen mikrosomalen Enzymen ergaben ebenfalls sehr differente Korrelationskoeffizienten, die nicht verwertbar waren. Eine Aufstellung der Koeffizienten findet sich im Anhang.

Gruppen	GGT mU/ml Serum	GGT/mg mikr. Prot. Mikrosomen
Kontrollen Gr. 1a	14,2 ± 7,53 n = 5	54,9 ± 11,05 n = 6
Rifa ohne Alk. Gruppe 2a	35,3 ± 16 n = 7	110 ± 41,71 n = 7
Rifa mit Alk. Gr. 2b	53 ± 24,43 n = 9	80,4 ± 22 n = 9
ohne Rifa mit Alk. Gr. 1b	48,7 ± 32 n = 4	68,58 ± 24,1 n = 4

Tab. 11. Werte der GGT im Serum und in der mikrosomalen Fraktion der Leber bei Probanden unter 14-tägiger Therapie mit Rifampicin (10 mg/kg KG) Angegeben sind die Mittelwerte und die Standardabweichung ($\bar{x} \pm s_D$).

Bei der Betrachtung der Mikrosomenwerte und der Serumwerte der GGT bei Patienten, die mit Rifampicin behandelt wurden und die keinen Alkohol getrunken hatten, ist die mikrosomale Aktivität ca. 3mal höher als die Aktivität im Serum. Bei den Probanden, die nebenher Alkohol tranken, ist der Anstieg der Aktivität in den Mikrosomen nicht so deutlich, da bereits ein erhöhter Wert sowohl in den Mikrosomen als auch im Serum vorliegt und die mikrosomale Aktivität nicht die Höhe erreicht wie bei Gr. 2 a. Bei Gr. 2a liegt der Serumwert bei 35,3 ± 15 mU/ml und die Aktivität in den Mikrosomen bei 110 ± 41,71 mU/mg mikr. Prot.. Bei Gruppe 2b liegt der Serumwert bei 53,0 ± 24,43 mU/ml und die Aktivität in den Mikrosomen bei 80,4 ± 22 mU/mg mikr. Prot.. Hier beträgt der Faktor, um den sich die Werte unterscheiden, 1,5. (Tab. 11)

5. Verlaufbeobachtung der GGT im Serum bei Probanden, die unter Rifampicinbehandlung stehen (10 mg/kg Körpergewicht).

Aus dem Patientengut der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen wurden 50 Patienten retrospektiv auf das Verhalten der GGT unter Rifampicintherapie untersucht und ausgewertet.

28 Patienten zeigten keine Mitreaktion der Transaminasen. Davon war bei drei Patienten leider kein Ausgangswert vorhanden.

Neun Patienten wiesen zuerst einen Anstieg der GGT auf, der in der zweiten oder dritten Woche seinen Höhepunkt erreichte und dann wieder einen Abfall der Serum-GGT zum Ausgangspunkt zeigte.

Bei neun Patienten ließ sich ein kontinuierlicher Abfall der Serum-GGT bis auf fast normale Werte nachweisen. Bei diesen Patienten war allerdings bereits vor Therapiebeginn ein erhöhter Serumwert der GGT vorhanden.

Sieben Patienten zeigten einen Anstieg der Serumwerte, der bis zur 5. - 6. Woche der Behandlung anhielt.

Bei der Betrachtung der drei Verlaufarten der GGT im Serum fiel auf, daß die täglich getrunkene Alkoholmenge einen deutlichen Einfluß ausübte. In Tab. 12 wurden wurden die Serumverläufe der GGT, ohne Berücksichtigung der Transaminasen im Serum, über vier Wochen aufgestellt.

Gruppe A mit Anstieg der GGT im Serum in den ersten 14 Tagen und Abfall ab der 3. Woche

Gruppe B mit leicht erhöhten Ausgangswerten und kontinuierlichem Abfall bis auf Normalwerte in der 4. Woche

Gruppe	vor Therapie mU/ml	1.Woche mU/ml	2.Woche mU/ml	3.Woche mU/ml	4.Woche mU/ml
Gruppe A n = 22	10,95 ± 3,3	17,47 ± 11,5	18,71 ± 8,2	18,31 ± 6,2	15,7 ± 6,3
Gruppe B n = 12	30,7 ± 7,7	31,63 ± 10	25,36 ± 6, 8	25,18 ± 7,8	21,14 ± 4,7
Gruppe C n = 7	74,75 ± 13,5	89,75 ± 30,5	96 ± 26,7	109 ± 23	112 ± 26,3

Tab. 12. Verlauf der Aktivitäten der GGT im Serum während vier Wochen unter der Behandlung mit Rifampicin (10 mg/kg Körpergewicht). Mittelwerte und Standardabweichung ($\bar{x} \pm x_s$).

Gruppe A Patienten ohne Alkoholgenuß
Gruppe B Patienten mit max. 2 Flaschen Bier/die
Gruppe C Patienten mit mehr als 4 Flaschen Bier/die

Gruppe C mit deutlich erhöhten Ausgangswerten und weiterem Anstieg unter der Rifampicintherapie

Es wurde den Gruppen anhand der anamnestischen Angaben die Alkoholmengen zugeordnet, und die Verläufe wurden in Tab. 12 zusammengestellt.

Die Patienten der Gruppe A haben entweder gar keinen Alkohol zu sich genommen oder nur gelegentlich. Gruppe B enthält Patienten mit einem regelmäßigen Alkoholgenuß von ungefähr 2 Flaschen Bier/die. Gruppe C enthält die Patienten mit einem großen regelmäßigen Alkoholgenuß, der in der Regel 4 Flaschen Bier/die überschreitet. Diese Gruppe ist sehr heterogen, da vereinzelt ein Konsum bis zu 8 Flaschen Bier/die oder die äquivalente Menge an anderen Alkoholika getrunken wurden.

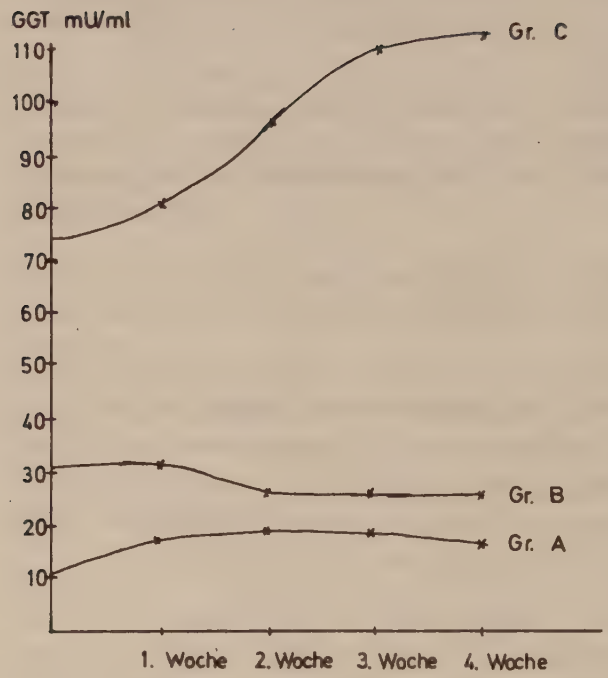


Abb. 10. Verlauf der Serumwerte der GGT unter Behandlung mit 10 mg Rifampicin/kg Körpergewicht und Tag. Angegeben sind die Mittelwerte. Einteilung und Mittelwerte mit Standardabweichung siehe Tab. 12.

Bei der Gruppe A steigt die GGT im Serum von 10,95 ± 3,3 mU/ml auf maximal 18,71 mU/ml an, das ist ein Anstieg um etwa 70 % und fällt nach der zweiten Woche wieder ab bis auf fast normale Werte (Tab. 12).

Bei der Gruppe B zeigt sich zu Beginn ein gleichbleibender Serumspiegel der GGT, der ab der zweiten Woche abfällt und zwar bis auf ca. 85 % des Ausgangswertes.

Die Gruppe C zeigt zu der bereits vorhandenen Serumwerterhöhung von 74,75 ± 13,5 mU/ml eine kontinuierliche Erhöhung der Serumwerte bis zur vierten Woche, in der der Serumspiegel der GGT 112 ± 26.3 mU/ml erreicht. Dies entspricht einem Anstieg von ca. 50 % des Ausgangswertes.

Besonders soll darauf hingewiesen werden, daß diesen drei Verlaufsgruppe (Gruppe A-C) ein Patient nicht zuzuordnen war, bei dem die Serum-GGT während sechs Wochen zwischen 31 mU/ml (Ausgangswert) und 20 mU/ml schwankte. Bei zwei weiteren Patientinnen war in der ersten Woche nach Beginn der Rifampicintherapie noch kein Anstieg der GGT im Serum erfolgt. Leider wurde bei diesen Patientinnen die Behandlung nicht fortgeführt, so daß nicht nachprüfbar war, ob diese Patientinnen auch weiterhin keinen Anstieg der GGT im Serum aufwiesen.

Bei 15 Patienten war es während der Behandlung zu einem Transaminasenanstieg gekommen. Es waren Transaminasenanstiege bis zu 40 mU/ml im Serum nachweisbar, in einem Fall bis zu 100 mU/ml, die jedoch im Laufe der Behandlung wieder zurückgingen. Der Verlauf der GGT im Serum war jedoch bei diesen Patienten nicht an den Verlauf der Transaminasen gekoppelt, sondern verhielt sich ebenso wie bei den Patienten, die keine Änderungen der Aktivitäten der Transaminasen im Serum erkennen lassen.

Sieben der 50 Patienten konnten nicht zur Auswertung herangezogen werden, da bei Ihnen entweder eine Cholostase oder der Verdacht auf eine INH-Hepatitis vorlag.

6. Diskussion

6.1 Induktion arzneimittelabbauender Enzyme in der Rattenleber

Die Enzymaktivitäten in der mikrosomalen Fraktion von Ratten, die mit Rifampicin behandelt worden waren, zeigten keine Erhöhung der Aktivitäten gegenüber den Kontrollratten. Diese Daten stimmen mit den Ergebnissen von Remmer (54) überein, der feststellte, daß Rifampicin bei Ratten die arzneimittelabbauenden Enzyme nicht induziert. Als Grund wird angenommen, daß ein Metabolit des Rifampicin induzierend wirkt, der von Ratten nicht gebildet werden kann. Dieser Tatbestand zeigt sich sowohl in der Aktivität der GGT als auch der AHH in der mikrosomalen Fraktion, die beide keine erhöhten Aktivitäten zeigten.

Die Aktivität der GGT in Mikrosomen von Ratten, die mit DDT behandelt worden sind, ist nicht erhöht. Jedoch ist die Aktivität der AHH in der mikrsomalen Fraktion erhöht, was auch im multiplen Vergleich nachgewiesen werden konnte. Die induzierende Wirkung von DDT auf die fremdstoffmetabolisierenden Enzyme ist aus der Literatur bekannt (43, 45, 53). Außerdem erhöht DDT seinen eigenen Metabolismus, dieser Effekt kann mit Puromycin, das die Proteinsynthese hemmt, unterdrückt werden. Somit beschleunigt DDT über die Steigerung der De-novo-Synthese von Proteinen - das heißt per definitionem über eine Enzyminduktion - seinen eigenen Metabolismus (43).

Die GGT ist bei der Aufrechterhaltung des Aminosäurepools und bei der Proteinsynthese als Transfer- und Hydrolaseenzym tätig, aus diesem Grunde müßte die De-novo-Synthese von Proteinen mit einem Anstieg der GGT gekoppelt sein (4, 23). Die Erklärung für die normale Aktivität der GGT bei den Ratten, die mit DDT behandelt worden waren, könn-

te der lange zeitliche Abstand zwischen der Applikation des Induktors und der Tötung der Tiere sein, so daß bereits die Induktion unspezifischer Proteine beendet war und auch die Enzymaktivität der GGT in den Mikrosomen bzw. Plasmamembranen zur Norm zurückgekehrt war.

Bei den mit Phenobarbital induzierten Ratten zeigen sich erwartungsgemäß erhöhte GGT-Aktivitäten in der mikrosomalen Fraktion. Bei dieser Untersuchung ist die Aktivität der GGT/mg mikr. Prot. dieser Ratten gegenüber den Kontrollratten um den Faktor 1,3 erhöht. Dieser Wert weicht etwas von der Literatur ab, wo Erhöhungen bei Rattenlebern um den Faktor 1,6 beschrieben wurden (28). Als Zeichen der Induktion des arzneimittelabbauenden Systems waren auch die AHH Aktivitäten und der Gehalt an Cytochrom-P-450 in der mikrosomalen Fraktion deutlich erhöht.

Auch die mit 3,4-Benzpyren behandelten Ratten zeigten erhöhte GGT-Aktivitäten in den Mikrosomen, der Dunnet-Vergleich war grenzwertig, der Faktor der Erhöhung ist etwa der gleiche wie bei den mit Phenobarbital induzierten Ratten. Ebenso waren die Aktivitäten der AHH in der mikrosomalen Fraktion erhöht, dieses Enzym kann vorwiegend als spezifische Hydroxylase der polycyclischen Kohlenwasserstoffe angesehen werden. Cytochrom-P-448, welches wir bei zwei Ratten bestimmen konnten, wies ebenfalls eine deutliche Erhöhung im Vergleich zu der Kontrollgruppe auf. Dies alles sind Beweise für die Induktion des hepatischen arzneimittelmetabolisierenden Enzymsystems, die bereits in dieser Weise in der Literatur beschrieben worden sind.

Bei den mit TSO behandelten Ratten ist ebenfalls eine Erhöhung der Aktivitäten der GGT in der mikrosomalen Fraktion vorhanden. Ebenso verhielt es sich mit der Aktivität der AHH in der mikrosomalen Fraktion. Aber obwohl sich ein deutlicher Trend zu erhöhten Aktivitäten abzeichnete, war der multiple Vergleich nach Dunnet jedoch nicht signifikant.

Anhand der ebenfalls erhöhten Cytochrom-P-450 Werte scheint die Vermutung gerechtfertigt, daß TSO eine induzierende Wirkung auf den Metabolismus von Arzneimitteln ausübt, jedoch bei der gewählten Dosis in wesentlich geringerem Ausmaß als Phenobarbital und 3,4-Benzpyren.

Zusammenfassend muß festgestellt werden, daß Rifampicin die arzneimittelabbauenden Enzyme in der Rattenleber nicht induziert, wohl aber 3,4-Benzpyren und Phenobarbital, die eine erhebliche Potenz zu Induktion dieses Enzymsystems besitzen. Der Nachweis, daß DDT die GGT induziert, konnte nicht erbracht werden, jedoch ist eine induzierende Wirkung auf die Enzyme des arzneimittelabbauenden Systems evident. Bei TSO muß eine induzierende Wirkung, wenn auch leichten Grades, auf die Enzyme des Arzneimittelmetabolismus angenommen werden.

6.2 Induktion arzneimittelabbauender Enzyme in der menschlichen Leber durch Behandlung mit Rifampicin

Die induzierende Wirkung von Rifampicin auf die Enzyme des Arzneimittelmetabolismus wurde anhand der erhöhten Clearance von Arzneimitteln festgestellt, die auf eine gesteigerte Biotransformation in der Leber zurückgeführt wird (1, 11, 13, 35, 74). Zu den arzneimittelmetabolisierenden Enzymen gehören auch die AHH und die Cytochrom-c-Reduktase, die bei dieser Untersuchung berücksichtigt wurden. Die GGT, die ja ein Enzym des Proteinstoffwechsels ist, ist sekundär bei der Induktion beteiligt, da sie beim Aufbau der Enzymproteine über den Aminosäurepool mitwirkt.

Bei diesen Untersuchungen zeigte sich, daß die Probanden in Gruppen entsprechend dem Alkoholgenuß eingeteilt werden mußten. Alkohol beeinflußt die Serumaktivitäten der GGT und auch ihre Aktivität in der mikrosomalen Fraktion.

Nach einmaliger Gabe von Äthanol steigt die Aktivität in der Leber leicht an, ebenso im Serum, während fortgesetztem Alkoholgenuß geht die Aktivität in der Leber zurück, jedoch nicht im Serum (34, eine Untersuchung bei Ratten). Alkohol scheint in geringen Mengen die GGT in den Mikrosomen zu induzieren, bei größeren Mengen Alkohol über einen längeren Zeitraum scheint eine Schädigung der Zelle aufzutreten (34, 69).

Die Aktivitäten der GGT in der mikrosomalen Fraktion der Probanden, die keinen Alkohol zu sich nahmen, zeigten einen signifikanten Anstieg der GGT unter der Behandlung mit Rifampicin, ebenso waren die Enzyme AHH und Cytochrom-c-Reduktase in den mikrosomalen Fraktionen deutlich erhöht.

Überraschenderweise waren die mikrosomalen Aktivitäten der GGT bei Probanden, die zusätzlich Alkohol zu sich nahmen, nicht signifikant erhöht. Dagegen waren die Aktivitäten der AHH und der Cytochrom-c-Reduktase signifikant erhöht. Dies deutet auf die besondere Empfindlichkeit der GGT gegenüber Alkohol hin. Es findet keine zusätzliche Erhöhung der GGT, die aus Gründen der verstärkten Regenerationsleistung der Zelle bereits erhöht ist, statt, jedoch werden die Enzyme des arzneimittelmetabolisierenden Systems offensichtlich induziert. Rifampicin induziert das arzneimittelmetabolisierende System auch dann noch, wenn bereits eine Leberzirrhose eingetreten ist (75).

Eine andere Möglichkeit zur Erklärung der geringeren Erhöhung bei Patienten, die Alkohol zu sich nehmen, im Vergleich zu Patienten, die keinen Alkohol zu sich nehmen, könnten toxische Mechanismen sein, die zu einem Austritt von GGT aus der Zelle und zu einem konsekutiven Anstieg im Serum führen.

Die fortgesetzte Schädigung der Hepatozyten scheint nicht nur die Aktivität der GGT zu beeinflussen, sondern auch die Form in der die GGT auftritt. Neuere Untersuchungen zeigen, daß bei Alkoholschädigung der Leber im Serum die fetale Form der GGT auftritt (32, 42).

Die Interpretation der Ergebnisse bei Probanden, die Alkohol zu sich nehmen, ist deshalb sehr schwierig, da anamnestisch nicht immer sicher geklärt werden konnte, wie lange bereits ein ständiger Alkoholgenuß bestand und welche Menge täglich genossen wurde. Auch die Histologie hilft hier manchmal nicht weiter, da nicht alle Probanden, die Alkohol zu sich nehmen, eine mikroskopisch nachweisbare Schädigung der Leber aufweisen. Eine weiterführende Studie mit Auftrennung der adulten und fetalen Form der GGT könnte sehr hilfreich sein.

6.3. Korrelation der Aktivitäten der Serum GGT mit den Aktivitäten der mikrosomalen Fraktion

Die Serumwerte der GGT der Probanden, die keinen Alkohol zu sich nahmen, waren hochsignifikant erhöht nach der Gabe von Rifampicin. Dies kann als Ausdruck der stattfindenden oder bereits stattgefundenen Induktion durch Rifampicin gedeutet werden (51, 71).

Beim Versuch die Aktivitäten der mikrosomalen Fraktion mit den Serumwerten zu korrelieren, ergaben sich jedoch Schwierigkeiten. Es fanden sich hohe Korrelationskoeffizienten bei den Patienten, die keinen Alkohol zu sich nahmen und nicht mit Rifampicin induziert worden waren. Bei diesen Probanden scheint ein Gleichgewicht, das beständig ist, zwischen der Aktivität in den Hepatozyten und der Aktivität im Serum zu herrschen.

Die Korrelationskoeffizienten waren wesentlich niedriger bei den Patienten, die Alkohol zu sich nahmen. Hier scheint ein Ungleichgewicht zwischen den Aktivitäten im Serum und den Aktivitäten in der mikrosomalen Fraktion zu herrschen.

Auch bei den Probanden, die nur mit Rifampicin behandelt wurden, ist keine Korrelation der Aktivität im Serum mit der Aktivität in der mikrosomalen Fraktion vorhanden. Hier könnten genetische Unterschiede in der Induzierbarkeit eines Individuums zum Tragen kommen. Hier ist noch zu beachten, daß verschieden lange Zeiträume zwischen Behandlungsbeginn und Biopsie lagen. (6, 15, 70). 80 % der Patienten wurden im Zeitraum von 13 ± 8 Tage nach Behandlungsbeginn bzw. Ende einer Konversionspause biopsiert.

Die Interprètation ist besonders schwierig bei den Probanden, die sowohl Alkohol als auch Rifampicin zu sich nahmen. Hier lag kein verwertbarer Korrelationskoeffizient vor. Hier scheinen durch die Induktion und durch die Einwirkung des Alkohols unterschiedliche Reaktionstypen der GGT vorzuliegen, die sich gegenseitig beeinflussen. So ist eine Veränderung der Aktivitäten der GGT in der mikrosomalen Fraktion durch Rifampicin bei Probanden, die Alkohol zu sich nehmen, nicht so deutlich zu sehen. Es findet sich auch keine gravierende Erhöhung der Aktivität der GGT im Serum. Aber es muß anhand der erhöhten Aktivität der AHH und der Cytochrom-c-Reduktase eine Induktion des arzneimittelmetabolisierenden Enzymsystems angenommen werden.

Aus den oben angeführten Gründen (leichte Beeinflussbarkeit der Serum-GGT durch Alkohol, fehlende Korrelation der Serumaktivitäten mit den Aktivitäten der mikrosomalen Fraktion) ist die Serumaktivität der GGT als Screeningenzym für den Induktionszustand des arzneimittelabbauenden Enzymsystems nicht geeignet. Die Aktivität der

GGT in unserem Patientengut wird im wesentlichen durch drei Faktoren beeinflußt:

1. genetische Unterschiede zwischen den Individuen
2. Zeitdauer der Behandlung
3. Alkoholgenuß

Der direkte Rückschluß auf die Aktivitäten der GGT in den Mikrosomen und damit auf einen Induktionszustand des arzneimittelabbauenden Enzymsystems wird dadurch erschwert und ist vorerst nur möglich, wenn nur eine Variable zu berücksichtigen ist, wobei die genetischen Unterschiede auch dann bindende Aussagen erschweren.

6.4. Verlauf der GGT im Serum während der Behandlung mit Rifampicin

Die Serumstatistik wurde aufgestellt um einen Überblick über die Veränderungen der Serumaktivitäten der GGT und der Transaminasen unter der Behandlung mit Rifampicin zu erlangen. Die Dosierung des Rifampicins wurde pro kg Körpergewicht berechnet und betrug 10 mg Rifampicin/kg Körpergewicht.

Probanden, die Rifampicin erhalten, können eine milde Hepatitis mit erhöhung der Serumtransaminasen bekommen. Dies ist aber nur bei wenigen Probanden der Fall. Im untersuchten Patientengut wurde eine Mitreaktion der Transaminasen bei ca. 35 % der Patienten gefunden. Bei der Mehrzahl der anderen Patienten war lediglich die Serumaktivität der GGT verändert. Dies kann auf genetisch determinierte Unterschiede unter normalen Individuen in den Aktivitäten ihrer hepatischen arzneimittelmetabolisierenden Enzyme zurückgeführt werden (41, 58, 70).

Von den 65 % der untersuchten Patienten (entspricht 28 von 50 Patienten), die keine Erhöhung der Serumtransaminasen aufwiesen, hatten über 57 % (16 Patienten), wie erwartet, einen Anstieg der Aktivitäten der GGT im Serum, die restlichen 43 % (12 Patienten) stiegen nicht an bzw. zeigten sogar einen Abfall der Serumaktivitäten der GGT.

Bei der Aufteilung der Patienten entsprechend ihrem Alkoholkonsum ergaben sich drei Gruppen, die deutliche Unterschiede im Verhalten der Serumaktivität der GGT aufwiesen. In der Gruppe A, bei den Patienten, die keinen Alkohol zu sich nahmen, stieg die GGT bis zur zweiten Woche an, um schließlich wieder abzufallen. Der Anstieg erreichte bis zu 70 % des Ausgangswertes. Der Anstieg bis zur zweiten Woche deckt sich mit dem Induktionsmaximum nach 12 Tagen, das bei Gabe von Rifampicin zu beobachten ist. Nach dem 12. Tag erfolgt keine weitere Induktion mehr (15).

In der Gruppe B zeigte sich ab der 1. Woche ein Abfall der vorher erhöhten Serumwerte der GGT auf ca. 85 % des Ausgangswertes. Die Gruppe B enthält die Patienten mit einem Alkoholgenuß unter 2 Flaschen Bier/die, laut Anamnese. Diese überraschende Änderung der GGT-Aktivitäten im Serum könnte mit einem Verzicht auf weiteren Alkoholkonsum während der Therapie erklärt werden oder aber mit dem paradoxen Verhalten der GGT bei Patienten mit Alkoholgenuß. Des weiteren muß an die unterschiedlichen Halbwertszeiten der GGT-Isoenzyme gedacht werden (31).

Das Verhalten der Werte der GGT bei Patienten der Gruppe C, die alle einen längerdauernden Alkoholkonsum von über 4 Flaschen/die in der Anamnese aufwiesen, könnte mit einer gesteigerten toxischen Wirkung des Alkohols zusammen mit der Rifampicinmedikation erklärt werden und einer daraus resultierenden Zellschädigung.

Der Anstieg der GGT bis zur zweiten Woche bei den Patienten der Gruppe A kann auf die Induktionseffekte zurückgeführt werden (15), steigt die GGT jedoch auch im weiteren Behandlungsverlauf weiter an, ist mit toxischen Schädigungen zu rechnen und erhöhte Vorsicht geboten.

Besonders problematisch ist die Situation bei Patienten, die Alkohol zu sich nehmen. Hier sind die Verhältnisse besonders unübersichtlich und ein kontinuierlicher Anstieg der GGT im Serum unter der Behandlung mit Rifampicin zeigt eine toxische Schädigung der Leber an.

Zum Schluß soll noch auf das Verhalten der Serum-GGT bei drei Patienten eingegangen werden, die sich deutlich von den zuvor beschriebenen Verläufen unterscheiden.

Bei zwei Patientinnen, die keinen Alkohol zu sich nahmen, war in der ersten Woche nach Beginn der Rifampicintherapie noch kein Anstieg der GGT im Serum erfolgt. Leider wurde hier die Therapie nicht fortgesetzt, so daß nicht nachprüfbar war, ob diese Patientinnen auch weiterhin keinen Anstieg der GGT im Serum aufgewiesen hätten.

Ein Patient zeigte ständig schwankende Werte der Serum-GGT immer um den erhöhten Ausgangswert. Dieser Patient gehört in die Gruppe B mit mäßigem Alkoholgenuß.

Für das abweichende Verhalten der Serum-GGT bei diesen Patienten kann keine plausible Erklärung gefunden werden, es gibt vermutlich eine vierte Gruppe von Patienten, die - wahrscheinlich genetisch bedingt - während einer Rifampicintherapie nicht mit einem Anstieg der Serum-GGT antworten (6).

7. Zusammenfassung

Rifampicin induziert das Arzneimittel und Fremdstoffe metabolisierende Enzymsystem in der menschlichen Leber. Während die Aktivität der Cytochrom-c-Reduktase unter Rifampicin das 1,6 - 3fache der Kontrollgruppe erreicht, ist ein Anstieg der Arylhydrocarbonhydroxylase um das 6fache nachweisbar. Auch bei gesonderter Betrachtung nach Aufteilung der Gruppen in Alkoholiker und Nichtalkoholiker ändert sich der Induktionsfaktor unter Rifampicin für die mikrosomalen Enzyme des Arzneimittelmetabolismus nicht wesentlich.

Die mikrosomale GGT ist in ihrer Aktivität um den Faktor 2 höher als bei Kontrollpatienten. Bei Patienten, die zusätzlich Alkohol trinken, ist der Anstieg der GGT in den Mikrosomen nur gering. Die Aktivität der GGT im Serum steigt im Mittel bis auf einen Maximalwert, der um den Faktor 2,5 über dem Ausgangswert liegt. Das Maximum der Serumaktivität ist bei Nichttrinkern nach 14 Tagen erreicht und fällt dann kontinuierlich bis zur 4. Woche auf die Ausgangswerte ab. Bei 12 von 50 der mit Rifampicin behandelten Patienten ist keine Erhöhung der Serum-GGT nachweisbar. Patienten, die zusätzlich Alkohol trinken, haben einen höheren Ausgangswert der Serum-GGT, der offensichtlich abhängig von der Trinkmenge bis zu einem Plateau weiter ansteigt oder aber sofort abfällt.

Ergänzende Untersuchungen an Ratten, ergeben nach Rifampicin im Gegensatz zu Phenobarbital, 3,4-Benzpyren und DDT keinen Hinweis für eine Induktion des Arzneimittel und Fremdstoffe metabolisierenden Systems. TSO hat eine schwach induzierende Wirkung. Ein Unterschied in der mikrosomalen GGT ist nach Rifampicin nicht nachweisbar. Auch nach DDT und Benzpyren ist kein signifikanter Anstieg der mikro-

somalen GGT zu finden, während nach Behandlung mit Phenobarbital und TSO ein deutlicher Anstieg beobachtet wird.

Aus diesen Untersuchungen wird geschlossen, daß es bei mit Rifampicin behandelten Patienten, die gleichzeitig Alkohol trinken, zu einem vermehrten Austritt der GGT aus den Lebermikrosomen (bzw. Plasmamembranen) ins Serum kommt. Dies deuten wir als Ausdruck einer vorwiegend toxischen Schädigung. Der Anstieg der GGT bei Patienten, die keinen Alkohol trinken, reflektiert den Anstieg in der mikrosomalen Fraktion. Der Abfall der Serumspiegel nach 2 Wochen muß als Verminderung der Enzyminduktion gedeutet werden.

Da unter Rifampicin der Anstieg der GGT im Serum den Normalbereich nur wenig überschreitet, ist die Serum-GGT nicht besonders gut als Suchmethode für eine Induktion des Arzneimittel metabolisierenden Systems geeignet.

Ein Wiederanstieg der Serumaktivität nach 3 Wochen ist bei Patienten, die keinen Alkohol zu sich nehmen oder nur sehr wenig, als Zeichen einer sich anbahnenden toxischen Hepatitis zu werten.

Liste 1 Ergebnisse der mikrosomalen Inkubationen bei der Ratte

	GGT/mg	AHH FE/mg	Cytochrom P 450
K1	3,18	338,3	-
K2	2,37	-	0,589
K3	2,26	-	0,583
K4	2,12	754	0,91
K5	2,28	-	-
K6	2,42	379,8	-
K7	2,78	434,3	-
K8	2,53	329,5	-
K9	2,63	331.4	-
K10	3,13	438	-
BP1	3,068	978,8	-
BP2	3,06	950,9	-
BP3	3,62	973	1,377 P448
BP4	2,99	353,6	-
BP5	3,86	753,7	1,156 P 448
PB1	3,98	982,8	3,95
PB2	2,95	904,3	2,06
PB3	2,86	832,2	-
PB4	4,12	1233,8	2,22
PB5	3,61	914,6	-
PB6	2,94	872	2,44
Rifa 1	2,67	311	-
Rifa 2	3,32	481,6	0,668
Rifa 3	2,297	445,1	-
Rifa 4	2,38	541,5	0,714
Rifa 5	2,504	711,9	-
TSO1	4,27	384,8	0,543
TSO2	3,44	490,7	0,987
TSO3	2,11	605,4	1,366
TSO4	4,29	629,2	0,97
TSO5	3	566,3	0,998

Fortsetzung Liste 1

DDT 1	3,525	896	1,601
DDT 2	1,62	746,8	-
DDT 3	2,44	680,7	-
DDT 4	2,04	822,2	2,992
DDT 5	2,34	781	-
DDT 6	2,16	850	-

Liste 2 Ergebnisse der mikrosomalen Inkubationen und die Serumwerte beim Menschen

Gruppe 1a (kein Alkohol, kein Rifampicin)

	GGT Mic	GGT Serum	AHH Mic	Cyt.-c.Red.
M 34	33,92	5	64,3	-
M 12	64,7	23	88	-
M 41	54,09	8	-	0,166
M 43	59,35	19	59,1	0,326
M 50	61,48	-	52	0,106
B 3	54,67	16	32	0,136

Gruppe 1b (Alkohol, kein Rifampicin)

B 17	37	37	29	0,195
M 16	77,3	-	44	0,154
M 23	64,67	24	-	0,187
M 44	94,94	85	-	-

Gruppe 2a (kein Alkohol, Rifampicin)

B 2	151,1	28	-	-
B 4	133,6	15	469	0,275
B 11	75,95	64	383	0,3
B 15	66 8	49	213,3	0,275
B 16	52,99	30	134,2	0,192
M 10	139,56	30	555,8	0,45
M 36	145,67	31	-	-

Fortsetzung Liste 2

Gruppe 2b (Alkohol, Rifampicin)

M 52	72,5	58	-	-
B 5	105	64	234	0,292
B 6	116,2	39	490	0,426
B 7	68,2	30	366	0,303
B 8	53,08	42	278,8	0,24
B 10	54,11	81	245	0,21
B 14	76,38	42	164,9	0,242
B 26	77,46	81	-	-
B 13	101,36	64	210	0,27

Liste 3 Korrelationskoeffizienten beim Menschen

	Gr. 1a	Gr. 1b	Gr. 2a	Gr. 2b
Mic/Ser linear	0,87	0,76	0,3	0,14
Mic AHH linear	0,14	-	0,95	0,3
Mic/Cyt linear	0,2	0,85	0,1	0,85
AHH/Cyt linear	0,62	-	0,83	0,85
Mic/Ser ln	0,84	0,65	0,5	0
Ser/Mic ln	0,92	0,65	0,54	0
Mic/AHH ln	0	-	0,95	0,26
AHH/Mic ln	0,1	-	0,9	0
Mic/Cyt ln	1	0,73	0,75	0,73
Cyt/Mic ln	0	0,84	0,75	0,73
AHH/Cyt ln	-	-	0,8	0,79
Cyt/AHH ln	-	-	0,85	0,83

9. Literaturverzeichnis

1) Acocella, G., A. Lamarina, F.B. Nicolis, V. Pagani and G. Segre
Kinetic studies on Rifampicin: a multicompartimental analysis of the serum, urine and bile concentration in subjects treated for one week
Europ. J. clin. Pharmacol., 5, 111-115 (1972)

2) Albert, Z., M. Orlowska & M. Szewczuk
Histochemical and Biochemical Investigation of GGT in the Tissues of Man and Laboratory Rodents
Acta histochim. (Jena), 18, 78-89 (1965)

3) Bartels, H., W. Hauck, J. Vogel
Aminopyrine - an effective modifier of rat liver and Serum-GGT
Pediatrics, 86, 298-301 (1975)

4) Bodnaryk, R.P.
Membrane bound GGT Transpeptidase. Evidence that it is a compound of the Aminoacid transport system
Canad. J. Biochem., 50, 524-528 (1972)

5) Boehringer Diagnostika
GGT neu, Optimierter Test
Packungsbeilage (1977)

6) Breckenridge, A., A.L. Orme, L. Davis, S.S. Thorgeirsson and D.S. Davies
Dose-dependent Enzyme Induction
Clin. Pharmacol. Ther., 14, 514-520 (1973)

7) Breckenridge, A., J.B. Roberts
Clinical Significance of Microsomal Enzyme Induction
Pharmacol. Res. Comm., 8 (3), 229-242 (1976)

8) Cohen, M.L., M. L. Gartner, O.O. Blumenfeld and I.M. Arias
GGT. Measurment and development in Guinea Pig small intestine
Pediat. Res., 3, 5-10 (1969)

9) Conney, A.H., E.C. Miller and J.A. Miller
Substrate induced Synthesis and other Properties of Benzpyrene-Hydroxylase in Rat liver
J. Biol. Chem., 228, 753-766 (1957)

10) Conney, A.H., A.G. Gilman,
Puromycin Inhibition of Enzyme Induction by 3-M-Cholanthren and Phenobarbital
J. Biol. Chem., 238, 3682-3693) (1963)

11) Davies, M., R. Williams, D.M. Burley
Rifampine and enzyme induction
Med. Chir. Dig., 5, 341-343 (1976)

12) DeDuve, C., B.C. Pressmann, R. Gianetto, R. Wattiaux and F. Appelmans
Tissue fractionation studies. (. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat liver
Biochem. J., 60, 604- 617 (1955)

13) Edwards, O.M., R.J. Courtenay-Evans, J.M. Galley, J. Hunter and A.D. Trait
Changes in Cortisol Metabolism Following Rifampine Therapy
Lancet 1974 II, 549-551

14) Fleischmann, R., H. Mattenheimer, A.W. Holmes and H. Remmer
Micromethod for the preparation of a microsomal fraction from rat and human liver by differential sedimentation
Biochem. Biophys. Res. Comm., 62, 289-295 (1975)

15) Fleischmann, R.
Maximaler Induktionszeitpunkt und Induktionsdauer arzneimittelabbauender Enzyme beim Menschen nach Gabe von Rifampicin
Verh. dtsch. Ges. inn. Med., 84, 1608-1612 (1978)

16) Fleischmann, R. Mitteilung

17) Gibinski, K., H. Grzybek, J. Zmuddzinski
The Occurence of GGT in the Human Liver Under Normal and Pathological Condition
Acta med. Pol., 4, 341-350 (1963)

18) Gielen, J.E., F.M. Gaujon and D. W. Nebert
Genetic Regulation of Arylhydrocarbonhydroxylase Induction
J. biol. Chem., 247, 1125-1137, 1972

19) Goldberg, D.M., J.V. Martin
Role of Gamma-Glutamyl Transpeptidase Activity in the Diagnosis of Hepatobiliary Disease
Digestion, 12, 232-246 (1975)

20) Goldberg, D.M.,
Clinical Enzymology Chapter 6
Prog. Med. Chem., 13, 38-45, (1976)

21) Gregorczyk, J., J. Stanosek, A. Lewandowska-Tokarz
Pol. Endocrin., 16, 76-80 (1965)

22) Hanes, C.S., F.J.R. Hird, F.A. Isherwood
Synthesis of peptides in enzymatic reactions involving glutathion
Nature, 166, 288-292 (1950)

23) Hanes.C.S., F.J.R. Hird, F.A. Isherwood
Enzymic Transpeptidation Reactions Involving Gamma-Glutamyl-Peptides and Alpha-Amino-Acid Peptides
Biochem. J., 51, 25-35 (1952)

24) Hart., L.G. and J. R. Fouts
Effects of Acute and Chronic DDT Administration on Hepatic Microsomal Drug Metabolism in the Rat
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 114, 388-392 (1963)

25) Henning, H., H.H. von Braun, C.J. Lüders und P. Probst
GGT in der Diagnostik chronischer Leberkrankheiten
Aktuelle Diagnostik, Boehringer Mannheim

26) Hildebrandt, A.G., I. Roots, M. Spock, K. Saalfrank und H. Kewitz
Evaluations of in vivo Parameters of Drug Metabolizing Enzyme Activity in Man after Administration of Clemastine, Phenobarbital or Placebo
Europ. J. clin. Pharmacol., 8, 327-336 (1975)

27) Idéo, G., R. de Franchis, E. del Nino and N. Dioguardi
Gamma-Glutamyl-Transpeptidase as a Diagnostic Aid
Lancet 1970 II, 1036-1037

28) Idéo, G.R., R. de Franchis, E. del Nino and N. Dioguardi
Phenobarbitone increases rat liver GGT
Lancet 1971 II, 825

29) Jezequel, A.M., F. Orlandi, L.T. Tenconi
Changes of the smooth endoplasmatic reticulum induced by Rifampine in human and guinea pig hepatocytes
GUT, 12, 984-989 (1971)

30) Kato, R., K. Iwasaki, T. Shiroga and H. Noguchi
Evidence for the Involvement of Cytochrome-P-450 in Reduction of Benzpyrene-4,5oxide by Rat Liver
Biochem. Biophys. Res. Comm., 70 (3), 681-687 (1976)

32) Koettgen, E., W. Prellwitz, W. Gerok
Nachweis einer vermehrt sialylierten fetalen Enzymvariante der Gamma-Glutamyltransferase im Serum von Patienten mit Lebererkrankungen und unter Azathioprin Therapie. Ein neuer diagnostischer Parameter.
Verh. dt. Ges. inn. Med., 84, 1062-1064, 1978

31) Koettgen, E. W. Gerok
Isoenzymdifferenzierung der Gamma-Glutamyltransferase mit Concavalin A und Concavalin A Sepharose
Klin. Wschr., 54(9), 439-444 (1976)

33) Kokot, F., J. Kuska, H. Grzybek & A. Cekanski
Gamma-GT in Tumor Diseases
Arch. Imm. Ther. Exp. Warsz., 13, 586 - 592) (1965)

34) Kowaguchi, Y
Studies on GGT. The Origin of Serum GGT
Japanese J. Gastroenterol., 70, 1157-1168) (1973)

35) Kozma,J., K. Lapis, A. Tompa
Leberbiopsie während der Rifampicinbehandlung
Prax. Pneumol., 30, 764-770 (1976)

36) Lawinski, M.
The Influence of Halothane and Diethyl-ether on GGT in the Liver of Rats
Arch. Imm. Ther. Exp. Warsz., 16, 942-949 (1968)

37) Leutz, J.C., and H.V. Gelboin
Benzpyrene(a)-4,5-oxide Hydratase:. Assay, Properties, Induction
Arch. Biochem. Biophys., 168, 722-726 (1975)

38) Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall
Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent
J. biol. Chem., 187, 265-275 (1951)

39) Miguet, J.P., P. Mavier, C.J. Soussy
Induction of Hepatic Microsomal Enzymes after Brief Administration of Rifampine in Man
Gastroenterol., 72,(5 Pt. 1) 924-926 (1977)

40) Miller, R. G. jr.,
Simultaneous statistical interference,76
Verlag Mc Graw-Hill, Book-Company, New York,(1966)

41) Mitchell, J., and D. Jollow
Metabolic Activation of Acetaminophenazon, Furosemid and INH to hepatotoxic substances
Drug Interactions 127-145, Raven Press, New York (1974)

42) Miyazaki, S., and Makato Okumura
Change of Serum-GGT and Isoenzyme Pattern in Hepato-biliary Pancreatic Disease
Clin. chim. Acta, 40, 193-197 (1972)

43) Morella, A.,
Induction of DDT Metabolizing Enzymes in Microsomes of Rat liver after Administration of DDT
Canad. J. Biochem., 43, 1289-1295 (1965)

44) Naftalin, L., V.J. Child, D. Morley, D. Smith
Observations on the side of the originof Serum GGT
Clin. chim. Acta, 26, 297-300 (1969)

45) Nigg, H.N., R.L. Metcalf and J.P. Kapoor
DDT and Selected Analogues as Microsomal Oxidase Inducers in the Mouse
Arch. Environm. Contam. and Toxicol., 3, 426-436 (1975)

46) Orlowski, M., A. Szewczuk
A colorimetric determination of Gamma-GT activity in human serum and tissues with synthetic substrates
Acta biochem. Polon., 8, 189-200, (1961)

47) Orlowski, M., A. Szewczuk
Determination of Gamma-GT Activity in Human Serum and Urine
Clin. chim. Acta, 7, 755-760 (1962)

48) Orlowski, M. A. Meister
Isolation of Gamma-GT from hog Kidney
J. biol. Chem., 240, 338-347 (1965)

49) Orlowski, M., A. Meister
The Gamma-GT cycle, a possible Transport System for Amino acids
Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 67, 1248-1255 (1970)

50) Orrenius, S., L. Ernster,
Phenobarbitone Induces Synthesis of the oxidative demethylating Enzymes of Rat Liver Microsomes
Biochem. Biophys. Res. Comm., 16, 60-65 (1964)

51) Otani, G. and H. Remmer
Participation of microsomal NADPH-Cyt-C-Reductase in the Metabolism of Rifampine
Naunyn-Schmiedebergs Archiv Pharmakol. Suppl., 287, 76 (1975)

52) Persijn, J.P., W. v. d. Slik, W. Gruber
New Substrates for Measuring Gamma-GT Activity
Clin. Chem. Clin. Biochem., 12, 228-235 (1974)

53) Remmer, H.
Induction of Drug Metabolizing Enzyme Systems in the Liver
Europ.J.clin. Pharmacol., 5, 116-136 (1972)

54) Remmer, H., B. Schöne, R.A. Fleischmann
Induction of th Unspecific Microsomal Hydroxylase in the Human Liver
Drug Metab. Dispos., 1, 224-229 (1973)

55) Richter, R.
Some properties of Gamma-GT from human kidney
Arch. Imm. Ther. Exp., 17, 476-495 (1969)

56) Roots, J., A.G. Hildebrandt and M. Speck
Capacity of "in vivo" Parameters to Indicate Induction and Inhibition of Drug Metabolism in Man
6th Int. Congress of Pharmacol. Helsinki, Juli 1975

57) Rosalki, S.B., D. Tarlow, D. Rau
Gamma-GT elevation in patients receiving enzyme inducing drugs
Lancet 1971 II, 376

58) Scheurer, P.J., J. A. Summerfield, S. Lal
Rifampicin Hepatitis
Lancet 1974 I, 421-425

59) Schmassmann, H., E. Oesch
Trans-Stilbene oxide: A selective inducer of rat liver epoxide hydratase
Mol. Pharmacol., 14, 834-847 (1978)

60) Schmidt, E., und F.W.
Die GGT
Deutsche Med. Woschenschrift, 98, 1572-1578 (1973)

61) Schneider, W.C., G.H. Hogeboom
Intracellular Distribution of Enzymes
J. biol. . Chem., 183, 123-128 (1950)

62) Schöne,B., R.A. Fleischmann, H. Remmer and H.F. von Oldershausen
Determination of Drug Metabolizing Enzymes in Needle Biopsies of Human Liver
Europ. J. clin. Pharmacol., 4, 65-73 (1972)

63) Smith, S.E., M.D. Rawlins
Prediction of Drug-Oxidation Rates in Man, Lack of correlation with serum GGT and urinary Excretion of D-Glucyric Acid and 6ßHydroxy Cortisol
Europ.J.clin. Pharmacol., 7, 71-75 (1974)

64) Szasz, G.
A Kinetic Photometric Method for Serum GGT
Clinical Chem., 15,(2), 124-136 (1969)

65) Szasz
GGT Aktivitäten im Urin
Klin. Chemie, 1, 1-8 (1970)

66) Szewczuk, A., T. Baranowski
Purifikation and Properties of Gamma-GT from Beef kidney
Biochem. Z., 338, 317-329 (1963)

67)Szewczuk, A.,
A soluble Form of Gamma-GT in Human Tissues
Clin.chim.Acta, 14, 608-614 (1966)

68) Tate, S.S., A. Meister
Subunit Structure and Isozymic Forms of Gamma Glu-

tamyl Transpeptidase
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 73, (8), 2599-2603 (1976)

69) Teschke, R.A., A. Brand and G. Strohmeyer
Induction of Hepatic Microsomal Gamma-GT Activity Following Chronic Alcohol Consumption
Biochem. Biophys. Res. Comm., 75(3), 718-724 (1977)

70) Vesell, E. and J.G. Page
Genetic control of the Phenobarbitone induced Shortening of Plasma Antipyrine halflives in Man
J. clin. Invest., 48, 2202-2209 (1969)

71) Whitfield, J.B., D.W. Moss, W. Orme and A. Breckenridge
Changes in plasma Gamma-GT Activity associates with alterations in drug metabolism in man
Brit.Med.J., 1, 316-321 (1973)

72) Williams, C.H., H. Kamin
Microsomal Triphosphopyridine Nucleotide Cytochrome-c-Reductase of Liver
J. biol. Chem., 237, 587-595 (1962)

73) Zein, M., G. Discombe
Serum GGT as a diagnostic aid
Lancet 1970 II, 748-750

74) Zilly, W., D.D. Breimer, E. Richter
Induction of drug metabolism in man after Rifampicine Treatment measured by increased Hexobarbitone and Tolbutamide Clearance
Europ. J. clin. Pharmacol., 9, 219-227 (1975)

75) Zilly, W., D.D. Breimer, E. Richter
Stimulation of drug metabolism by Rifampicine in patients with cirrhosis or cholestasis measured by increased Hexobarbitone and Tolbutamide clearance
Europ. J. clin. Pharmacol., 11(4), 287-293 (1977)

76) Meister, A.
Current status of the GGT Cycle , In: Functions of Glutathion in Liver and Kidney, pp 43-59
H. Sies and A. Wendel, eds., Springer Verlag, Heidelberg, 1978

Lebenslauf

Am 30.3.1952 wurde ich, Renate Lorenz, als Tochter des Josef Lorenz und der Hilda Helena Lorenz, geb. Oesterle in Iffezheim/Rastatt geboren.
Im April 1959 wurde ich in der Grundschule Rastatt eingeschult. Im April 1963 wechselte ich auf die Realschule Rastatt über, die ich im Juli 1968 mit dem Zeugnis der Mittleren Reife verließ. Danach absolvierte ich eine 2jährige Lehre als Arzthelferin bei einem praktischen Arzt. Von Okt. 1970 bis Sept 1971 bildete ich mich zur medizinisch-kaufmännischen Assistentin im Lehrinstitut Buchholz in Freiburg weiter.

Ab Sept. 1971 besuchte ich das Abendgymnasium in Rastatt. Im Juli 1974 verließ ich das Abendgymnasium Rastatt mit der Hochschulzugangsberechtigung.

Im Herbst 1974 begann ich mein Studium der Humanmedizin, in Tübingen, wo ich auch im Herbst 1976 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Ich beendete das Studium am 20.10.1980 mit dem Staatsexamen.